DIE MULTIPOLARE MITOSE

Lebendbeobachtungen und cytophotometrische Untersuchungen an mehrkernigen Zellen aus der Gewebekultur

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
HEINZ KUTZNER
aus Troisdorf

Bonn 1980

DIE MULTIPOLARE MITOSE

Lebendbeobachtungen und cytophotometrische Untersuchungen an mehrkernigen Zellen aus der Gewebekultur

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
HEINZ KUTZNER
aus Troisdorf

Bonn 1980

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. F. Pera

2. Gutachter: Prof. Dr. G. Schwanitz

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Bonn

Direktoren: Prof. Dr. K. Fleischhauer
Prof. Dr. H. Wartenberg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Richard Schwarzbold, 5305 Witterschlick

meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546506_0002

I N H A L T

I. Einleitung 11

II. Material und Methoden

1. Zellmaterial 16
2. Gewebekultur 16
3. Lebendbeobachtung 16
4. Deckglaspräparate 18
5. Färbungen 18
6. Cytophotometrische Messungen 19
7. Mikroskop und Filmmaterial 19

III. Ergebnisse

1. Gesamttabelle der Lebendbeobachtungen 20
   a) Verzeichnis der Abkürzungen 21
   b) Tab. 1a: Einkernige Zellen der aneuploiden Kultur 23
   c) Tab. 1b: Einkernige Zellen der euploiden Kultur 25
   d) Tab. 1c: Dreikernige Zellen der aneuploiden Kultur 29
   e) Tab. 1d: Zweikernige Zellen der euploiden Kultur 30
   f) Tab. 1e: Zweikernige Zellen der aneuploiden Kultur 47
2. Definition der Mitosestadien 57
3. Definition der multipolaren Mitose 59
4. Mehrkernige Zellen
   a) Häufigkeit 64
   b) Entstehung in vitro 64
      b1) Ausbleibende Cytoplasmateilung nach bipolaren Mitosen 64
      b2) Ausbleibende Cytoplasmateilung nach multipolaren Mitosen 65
      b3) Schwesterzellfusionen 66
      b4) Nicht-Schwesterzellfusionen 67
      b5) Pseudo-amitotische Kerneinschnürungen 67

5. Ploidiebestimmung ein- und zweikerniger Zellen 69
a) Ploidie einkerniger Zellen 69
b) Ploidie zweikerniger Zellen 69
c) Zellploidie und Anzahl der Zellkerne 71

6. Mitosedauer zweikerniger Zellen 72

7. Kernbewegungen 74

8. Veränderungen der Cytoplasmabegrenzung 77

9. Synchroner und asynchroner Prophasebeginn in zwei- und dreikernigen Zellen 79

10. Spindelpole 88

11. Polyploide Mitosen: Zahl der Spindelpole und Form der Metaphasenfigur 90
a) Ploidie und Spindelpole 91
b) Polzahldefizit 94
b1) Polyploide Mitosen ein- und mehrkerniger Zellen 95
b2) Polyploide Mitosen einkerniger Zellen 95
b3) Polyploide Mitosen zweikerniger Zellen 97
b4) Tetraploide Mitosen beider Kulturen 97
b5) Polyploide Mitosen beider Kulturen 98
c) Polarität 99
c1) Polyploide Mitosen ein- und mehrkerniger Zellen 101
c2) Polyploide Mitosen ein- und zweikerniger Zellen 101
c3) Polyploide Mitosen beider Kulturen 102
d) Äquatorialplatte 102
d1) Polyploide Mitosen ein- und mehrkerniger Zellen 104
d2) Polyploide Mitosen ein- und zweikerniger Zellen 104
d3) Polyploide Mitosen beider Kulturen 105
e) Ploidie und Metaphasenfigur 106

12. Metaphasenfiguren 108
a) Parallelmitosen 109
b) V-Mitosen 111
c) Dreistrahlige Mitosen 114
d) Pseudotripolare und -quadripolare Mitosen 116
e) Vierstrahlige Mitosen 117
f) Etagenmitosen 117

13. Chromosomenbewegungen 118

a) Entstehung einstrahliger Metaphasenfiguren 121
a1) Direkt - 1str bip.Mit. 121
a2) HS konfl - 1str bip.Mit. 122
a3) Entstehung einstrahliger Parallelmitosen 126

b) Entstehung dreistrahliger Metaphasenfiguren 127
b1) Direkt - 3str 127
b2) Suc - 3str 129
b3) HS konfl - 3str 130

c) Two-group metaphase 132

d) Entstehung vierstrahliger Metaphasenfiguren 144
d1) Direkt - 4str 144
d2) HS suc - 4str 145
d3) Direkt - Etagenmitose 146
d4) HS suc - Etagenmitose 147
Direkt - Etagenmitose ohne Kernfusion 147

e) Verminderung und Vermehrung der Strahlenzahl in mehrstrahligen Mitosen während der Prometaphase und der frühen Metaphase 147
e1) Konfl 1str - knick - 2str - 3str 148
e2) 1str - knick - 2str 151
e3) Konfl 2str - 1str Parallelmitose 152
e4) Konfl 2str - 1str 153
e5) Konfl 3str - 2str - 1str 155
e6) Konfl 4str - 1str 156
e7) HS konfl 4str - 3str 157
e8) HS konfl 4str - 1str (Parallelmitose?) 158
e9) HS konfl 4str - 1str Parallelmitose 161
e10) Konfl 4 Sterne - 4str - 3str 162

f) Aufbau und Schicksal der Hohlspindel 163

g) Restitutionskerne 169

14. Langzeitbeobachtungen 171

a) Langzeitbeobachtungen 1 - 10 172

b - u) Langzeitbeobachtungen 11 - 32 174

v) Lebendbeobachtung zweikerniger Riesenzellen 197

15. Zellzyklus 200

a) Zellzyklus von Tochterzellen bi- und multipolarer Mitosen und von Zellen mit bi- und multipolaren Spindelfiguren 205

b) Zellzyklus von Zellen unterschiedlicher Ploidie und von ein- und zweikernigen Zellen 207

16. Lebensfähigkeit und Teilungsfähigkeit der Tochterzellen bipolarer und multipolarer Mitosen 208

17. Mikronuklei 209

18. Cytoplasmapartikel 209

19. Häufigkeiten multipolarer Mitosen 211

a) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in einkernigen Zellen 212

b) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in zweikernigen Zellen 213

c) Vergleich der Häufigkeiten multipolarer Mitosen in einkernigen und in zweikernigen Zellen 214

d) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Zellen unterschiedlicher Ploidiestufen 215

e) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in tetraploiden Zellen 216

f) Häufigkeiten von zwei-, drei-, vier- und fünfpoligen Mitosen in tetraploiden ein- und zweikernigen Zellen 216

g) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in polyploiden Zellen 217

h) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Tochterzellen bipolarer, multipolarer, einstrahliger und mehrstrahliger Mitosen 218

i) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Tochterzellen zweikerniger Mutterzellen und polyploider Mutterzellen 219

20. Bestimmung der Spindelpolzahl in multipolaren Mitosen 220

21. Kernfusion 221

22. Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne bipolarer und multipolarer Mitosen ein-, zwei- und dreikerniger Zellen 222

a) Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne einkerniger und dreikerniger Zellen der euploiden und aneuploiden Kultur 223

b) Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Zellen der aneuploiden Kultur 228

c) Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Zellen der euploiden Kultur 229

d) Mitosen tetraploider ein- und zweikerniger Zellen 232

23. Vergleich der Aufteilung des chromosomalen Materials von ein- und zweikernigen Zellen aus einer euploiden und einer aneuploiden Kultur durch bipolare und multipolare Mitosen 235

24. Begrenzte Fehlverteilung 237

25. Varianten der Aufteilung des chromosomalen Materials einkerniger und zweikerniger Zellen durch multipolare Mitosen 238

26. Haploide Zellkerne und haploide Zellen 240

27. Somatische Reduktion durch multipolare Mitosen 243

28. Ploidie der Tochterzellen multipolarer Mitosen 244

29. Lage der Tochterkerne multipolarer Mitosen 248

IV. Diskussion

1. Kernsynchronie 249

2. Polyploidisierung und Reduktion 260

3. Somatische Reduktionsteilungen 264

a) Somatische Reduktion im engeren Sinn 265

b) Somatische Reduktion durch multipolare Mitosen 266

4. Vorkommen multipolarer Mitosen 270

5. Künstliche Erzeugung multipolarer Mitosen 271

6. Bildung mehrpoliger Spindelfiguren in der Lebendbeobachtung 272

7. Entstehung multipolarer Mitosen 277

a) Polyploidie und multipolare Mitosen 283

b) Multipolarität als vererbbare Zelleigenschaft 289

c) Ein-subunit-Pole 291

d) Centriolenzyklus 293

e) De novo - Bildung von Centriolen 299

f) Umwandlung von Basalkörperchen zu Centriolen 300

g) Centriolen und/oder pericentrioläres Material als Poldeterminanten 301

h) Entstehung zusätzlicher Pole durch "Spindelbruch" 302

i) Nicht-centrioläre Spindelorganisation 303

8. Effekte der multipolaren Mitose 312

9. Methode der Ploidiebestimmung 312

10. Somatische Reduktion durch multipolare Mitosen 316

11. Somatische Segregation durch multipolare Mitosen 323

12. Lebensfähigkeit der Tochterzellen multipolarer Mitosen 330

13. Der haploide Chromosomensatz 333

14. Die Bedeutung der multipolaren Mitose 344

V. Zusammenfassung 349

VI. Literaturverzeichnis 356

VII. Danksagung

VIII. Lebenslauf

I. Einleitung

Multipolare Mitosen sind Zellteilungsfiguren mit mehr als zwei Spindelpolen. Häufig wird die Bezeichnung "multipolare Mitose" allerdings auch auf T-, Y- und X-förmige Metaphasenfiguren mit mehreren Äquatorialplatten angewendet, ohne daß die genaue Anzahl der Spindelpole bekannt ist. Um Mißverständnisse zu vermeiden, wird deshalb in dieser Arbeit zwischen mehrpoligen und mehrstrahligen (= mehrere Äquatorialplatten) Mitosen unterschieden.

Multipolare Mitosen finden sich in Tier- und Pflanzenzellen, in vivo und in vitro. Besonders zahlreich ist ihr Vorkommen u.a. in malignen Tumorgeweben, in mehrkernigen polyploiden Zellen und in Gewebekulturen von Nagern (Übersicht bei HENEEN, 1970, 1971; PERA, 1970).

Seit den ersten Beschreibungen mehrpoliger Teilungsfiguren durch FOL (1875), MAYZEL (1875) und STRASBURGER (1880) gilt das besondere Interesse der meisten Autoren dem Problem der Verteilung des chromosomalen Materials multipolarer Mitosen auf die Tochterkerne. BOVERI (1888) vertrat die Auffassung, die multipolare Mitose sei als pathologische Mitose einzustufen, da durch sie die Chromosomen völlig ungeordnet nach dem Gesetz des Zufalls auf die Tochterkerne verteilt würden. Diese Meinung wurde später immer wieder bestätigt und als wesentlicher Bestandteil der von BOVERI (1914) aufgestellten Theorie der Cancerogenese akzeptiert.

Andererseits gibt es aber auch schon in der frühen Literatur zahlreiche Hinweise dafür, daß durch multipolare Mitosen in bestimmten Fällen auch eine nach ganzen Genomen geordnete Verteilung der Chromosomen erfolgen kann (z.B. BALTZER, 1908). Die Tochterkerne erhalten hier einen oder mehrere vollständige

Chromosomensätze. Der Ploidiegrad der Tochterkerne ist geringer als der der Mutterzelle (= somatische Reduktion); die Tochterzellen multipolarer Mitosen sind nicht alle genetisch gleichwertig, da die beiden Chromatiden eines Chromosoms nur auf zwei Kerne verteilt werden können. Die Zahl der Spindelpole, die im allgemeinen mit der der zukünftigen Tochterkerne übereinstimmt, übertrifft hier jedoch die Zahl der Schwesterchromatiden eines Chromosoms. Somit wird der "Dualismus der Kernteilungsphänomene" (BOVERI, 1888) aufgehoben (= somatische Segregation).
Die beiden Effekte der multipolaren Mitose, die somatische Reduktion und die somatische Segregation, waren in den letzten Jahren Gegenstand zahlreicher cytogenetischer Untersuchungen (OHNO, 1966; TEPLITZ, GUSTAFSON und PELLETT, 1968; PERA und SCHWARZACHER, 1969; PALITTI und RIZZONI, 1972; PERA und RAINER, 1973, 1974; PERA und SCHOLZ, 1974; RIZZONI, PALITTI und PERTICONE, 1974) und sollen auch in dieser Arbeit diskutiert werden.

Die Untersuchungen von PERA und SCHWARZACHER (1968, 1969), PERA (1970), PERA und RAINER (1973, 1974) und PERA und SCHOLZ (1974) ergaben, daß in Gewebekulturen der Erdmaus (Microtus agrestis) die Chromosomen multipolarer Mitosen nach vollständigen Genomen geordnet auf die Tochterkerne verteilt werden können. PALITTI und RIZZONI (1972) kamen nach Analysen multipolarer Mitosen des Rhesusaffen (Macaca mulatta) zu ähnlichen Resultaten.

Unser Wissen über Entstehung, Verhalten und Bedeutung mehrpoliger Spindelfiguren beruht hauptsächlich auf Untersuchungen an fixierten und gefärbten Zellen und Metaphasechromosomen (OHNO, WEILER, POOLE, CHRISTIAN und STENIUS, 1966; SCHMID, 1966; TEPLITZ et al., 1968; MARTIN und SPRAGUE, 1969; HENEEN, 1970, 1971, 1975; HENEEN, NICHOLS, LEVAN und NORBY, 1970; PALITTI und RIZZONI, 1972; PERA, 1975; RAINER, 1975). Während fixierte und gefärbte Präparate Momentaufnahmen ohne direkte Verbindung zu dem Davor und Danach darstellen, liefert die Lebendbeobachtung den gesamten Mitoseablauf im Zusammenhang und gewährt somit

Einblick in den Fluß des mitotischen Geschehens. Über Lebendbeobachtungen mehrpoliger Mitosen berichten u.a. MAZIA, HARRIS und BIBRING (1960), SISKEN und KINOSITA (1961), OFTEBRO (1965, 1968), OFTEBRO und WOLF (1967) und MOLE-BAJER (1967).
Für die genaue Untersuchung multipolarer Mitosen sind zwei- und mehrkernige Zellen besonders geeignete Beobachtungsobjekte, da mehrpolige Mitosefiguren in polyploiden Zellen und vor allem in mehrkernigen polyploiden Zellen häufiger vorkommen als in einkernigen diploiden Zellen (FOL, 1879; OFTEBRO, 1965; SCHMID, 1966; PERA und SCHWARZACHER, 1968, 1969; HENEEN, 1970, 1971; PERA, 1970; PERA und RAINER, 1973, 1974).
Nur in wenigen Fällen wurden jedoch bisher in Säugerzellen Lebendbeobachtungen multipolarer Mitosen mit cytogenetischen Untersuchungen der Teilungsprodukte kombiniert (PERA und SCHWARZACHER, 1968; SCHWARZACHER und PERA, 1969; PERA, 1969, 1970; PERA und RAINER, 1973).
Es war deshalb das Ziel der vorliegenden Arbeit, mittels Lebendbeobachtung zweikerniger Zellen und unter Zuhilfenahme von cytogenetischen Untersuchungsmethoden genauere Kenntnisse über die Entstehung multipolarer Mitosen und über die chromosomale Zusammensetzung und das Schicksal ihrer Teilungsprodukte zu gewinnen.
Seit den ersten Phasenkontrastaufnahmen einer mitotischen Kernteilung (MICHEL, 1943) sind die Zellen vieler Tier- und Pflanzenspecies während der Mitose mikrokinematographisch verfolgt worden; jedoch nur wenige Zellen sind für derartige Untersuchungen mitotischer Chromosomenbewegungen und Spindelbildungsvorgänge wirklich geeignet. Mitosevorgänge wurden hauptsächlich in Pflanzenzellen (BAJER, 1953, 1954, 1958, 1961, 1963, 1965, 1966, 1967, 1968; INOUE und BAJER, 1961; INOUE, 1964; BAJER und ALLEN, 1966; MOLE-BAJER, 1967, 1969; BAJER und MOLE-BAJER, 1969, 1972) und in Insektenzellen (DIETZ, 1956, 1972; NICKLAS, 1961; RICKARDS, 1975; MAREK, 1978; WISE, 1978) beobachtet und genau analysiert. Säugerzellen sind für detaillierte Beobachtungen des chromosomalen Individualverhaltens während der Mitose im allgemeinen weniger geeignet, da Zellorganellen und

Fetttröpfchen in der kugelförmigen mitotischen Zelle die Chromosomen häufig verdecken (SISKEN und KINOSITA, 1961; OFTEBRO, 1965, 1968; YAMANAKA und OKADA, 1968). In diesem Sinn stellen die in dieser Arbeit verwendeten Lungenfibroblasten der Erdmaus ein ungünstiges Beobachtungsobjekt dar: Die starke Lichtbrechung, bedingt durch die Kugelform der mitotischen Zelle und die zahlreichen Zellorganellen, gestattet nur in wenigen Fällen ein klares Bild der mitotischen Chromosomenbewegungen. Wesentlich geeigneter für die Untersuchungen multipolarer Mitosen erscheinen PtK-Rattenkänguruhzellen (Potorus tridactylis) (LEVAN, NICHOLS, PELUSE und CORIELL, 1966; HENEEN, 1968, 1970, 1975; ROOS, 1973a, b, 1976; RATTNER und BERNS, 1976; BERNS, RATTNER, BRENNER und MEREDITH, 1977; PETERSON und BERNS, 1979) und Nierenepithelzellen der Erdmaus (PERA, 1970).

In dieser Arbeit wurden Lungenfibroblasten der Erdmaus verwendet, da sie in Kultur über mehrere Monate und Jahre zu züchten sind und so Einblick in mögliche Veränderungen während der Kulturzeit erlauben, die das Auftreten mehrpoliger Mitosen betreffen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, ein größeres Kollektiv multipolarer Mitosen zu beobachten und auszuwerten, um - aufbauend auf den Arbeiten von BOVERI (1887, 1888, 1907), OFTEBRO (1965, 1968), OFTEBRO und WOLF (1967), PERA und SCHWARZACHER (1968, 1969), SCHWARZACHER und PERA (1969), HENEEN (1970, 1971, 1975), HENEEN et al. (1970), PERA (1970, 1974, 1975), PALITTI und RIZZONI (1972), PERA und RAINER (1973, 1974), RIZZONI et al. (1974) und RAINER (1975) - genauere Aussagen über die Aufteilung der Chromosomen auf die Tochterkerne multipolarer Mitosen in einer jüngeren, euploiden und in einer älteren, aneuploiden Fibroblastenkultur der Erdmaus (Microtus agrestis) machen zu können.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen ergaben sich Probleme und Fragestellungen, die eine sorgfältigere und längerdauernde Lebendbeobachtung notwendig erscheinen ließen. Es wurden Langzeitbeobachtungen zweikerniger Zellen durchgeführt, um Aufschlüsse über das weitere Schicksal der Tochter- und Enkelzellen

multipolarer Mitosen zu bekommen.

Die an einem euploiden und an einem aneuploiden Fibroblastenstamm der Erdmaus (Microtus agrestis) durchgeführten Untersuchungen und Lebendbeobachtungen sollten somit der Klärung folgender Fragen dienen:

1. Wie entstehen zwei- und mehrkernige Zellen?
2. Welche Besonderheiten zeigen polyploide ein-, zwei- und mehrkernige Zellen während der mitotischen Kernteilung?
3. Welche mitotischen Vorgänge charakterisieren die Bildung einer mehrpoligen Metaphasenfigur?
4. Ist die mitotische Aufteilung des chromosomalen Materials durch mehrpolige Spindelfiguren eine rein zufällige im Sinne Boveris (1888), oder führen multipolare Mitosen zu einer geordneten Aufteilung vollständiger haploider Chromosomensätze bzw. eines ganzzahligen Vielfachen davon auf die Tochterzellen?
5. Inwieweit verändert sich die Präzision der Aufteilung des chromosomalen Materials durch multipolare Mitosen mit dem Alter bzw. dem Grad der Entartung einer Zellkultur?
6. Sind die Tochter- und Enkelzellen multipolarer Mitosen lebens- und teilungsfähig? Welche Spindelfiguren bilden sie?
7. Wie entstehen multipolare Mitosen?
   Welche Widersprüche und Übereinstimmungen mit gegenwärtig diskutierten Modellen der Spindelbildung werden durch die Ergebnisse der Lebendbeobachtung und die cytophotometrische Untersuchung der Tochterkerne multipolarer Mitosen offensichtlich?
   Wie läßt sich die Entstehung multipolarer Mitosen auf der Basis der momentan akzeptierten Mitosemodelle erklären?

II. Material und Methoden

II.1. Zellmaterial

Die Lebendbeobachtungen wurden an zwei Lungenfibroblastenkulturen weiblicher Erdmäuse (Microtus agrestis) durchgeführt. Die erste Zellkultur (Nr.65) wurde während des 40. bis 47. Kulturmonats untersucht; in dieser Zellinie befanden sich nahezu ausschließlich aneuploide Zellen (Chromosomenzahlen zwischen 29 und 187 Chromosomen). Die für Microtus agrestis typischen großen Geschlechtschromosomen waren nicht mehr zu erkennen.
Die zweite Zellkultur (Nr.104) enthielt überwiegend euploide Zellen mit großen Geschlechtschromosomen; von dieser Kultur wurden die Zellen zwischen dem 6. und 23. Kulturmonat untersucht.

II.2. Gewebekultur

Kulturmedium: Eagles MEM (Minimal Essential Medium der Firma Difco, Detroit, Michigan, USA) + 20% fetales Kälberserum, 100 IE/ml Penicillin, 0.1 mg/ml Streptomycin und Phenolrot als Indikator.
Die auf dem Boden einer Glasflasche haftenden Zellen waren von Kulturmedium bedeckt. Alle 48 - 72 h wurde das Medium erneuert. Zur Weiterzüchtung und zur Lebendbeobachtung wurden die Zellen mit Trypsin (0.25%) vom Boden der Glasflasche abgelöst und auf Subkulturflaschen bzw. Beobachtungskammern übertragen.

II.3. Lebendbeobachtung

In Kulturmedium suspendierte Fibroblasten wurden in eine Be-

obachtungskammer (Sykes-Moore Tissue Culture Chamber der Firma Bellco, Vineland, N.J., USA) gespritzt; nach 24 Stunden hafteten die Zellen fest auf dem Bodendeckgläschen und konnten nun unter dem Phasenkontrastmikroskop beobachtet und photographiert werden.
Während der Beobachtung lag die Kammer in einem von Messingröhrchen durchzogenen Zinnblock, der auf dem Mikroskopkreuztisch befestigt war. Der Zinnblock und ähnlich konstruierte Objektiv- und Kondensorhüllen wurden mit Wasser von konstanter Temperatur (38°C) durchströmt. Da zudem Kammer und Heiztisch gegen die Umgebung isoliert waren, konnten Temperaturschwankungen im Innern der Beobachtungskammer auf ein Minimum reduziert werden.
In regelmäßigen Abständen wurde die Kammer mit frischem Kulturmedium durchströmt; dabei erwies es sich für das Zellwachstum als vorteilhaft, immer einige Luftblasen mit dem Kulturmedium in die Kammer einfließen zu lassen. Während der Langzeitbeobachtungen erfolgte eine Durchströmung mit ca. 15 ml frischem Kulturmedium im fünfstündigem Intervall, um somit das verbrauchte Medium nahezu vollständig auszutauschen.
Eine zu lange und zu intensive Belichtung der beobachteten Zellen wurde vermieden, da eine kontinuierliche Belichtung vor allem während der Prometaphase und Metaphase zu einem gestörten Mitoseablauf und in den meisten Fällen zum Zelltod mehrerer oder aller Tochterzellen führte. Die Zellen wurden in der Regel im Abstand von wenigen Minuten jeweils nur für 15 - 30 Sekunden bei einer Lampenspannung (Glühlampe 60 W/ 12 V) von 4 - 6 V beobachtet. Nur zum Photographieren wurden Lichtintensitäten zwischen 6 und 10 V Lampenspannung gewählt.

Nach Abschluß einer Lebendbeobachtung wurden die Zellen unter dem Mikroskop fixiert; hierzu wurde unter mikroskopischer Kontrolle Methanol-Eisessig 3+1 in die Kammer injiziert.
Nach Anfertigung einer Übersichtszeichnung des beobachteten Areals wurde das Gesichtsfeld mit feinen Tuschestrichen markiert. Das kreisrunde Deckgläschen konnte nun entfernt und nach Lufttrocknung feulgengefärbt werden. Da die Tuschemarkierung

während des Färbevorgangs häufig abgelöst wurde, und ein Wiederfinden der Zellen somit unmöglich geworden war, wurde zusätzlich eine zweite, gröbere Gesichtsfeldmarkierung mit SCHWAN-STABILO-PEN 96 P (permanent OH-PROJECTION) durchgeführt; außerdem wurden die dem beobachteten Areal benachbarten Zellen mit einem feinen Skalpell unter mikroskopischer Kontrolle weggekratzt.
Die von vielen Autoren (MOLE-BAJER und BAJER, 1963; BAJER, 1965; BAJER und ALLEN, 1966; BAJER und MOLE-BAJER, 1969, 1972; ROOS, 1976) beschriebene mikrokinematographische Technik der automatisch durchgeführten Lebendbeobachtung erwies sich wegen der Kugelform mitotischer Fibroblasten als unbrauchbar: Während die automatische Filmkamera in jeweils gleichen Zeitabständen Bilder aus nur einer optischen Ebenen anfertigt, mußte hier gezielt in mehreren optischen Ebenen photographiert werden, um die in den fast kugelförmigen Zellen ablaufenden mitotischen Vorgänge in ihrer ganzen Ausdehnung erfassen zu können. Auch erlaubt es die automatische mikrokinematographische Technik nur schwer, die häufig amöbenhaft aus dem Blickfeld gleitenden Zellen über einen längeren Zeitraum zu verfolgen.

II.4. Deckglaspräparate

Von jeder für die Lebendbeobachtung verwendeten Fibroblastenkultur wurden Deckglaspräparate in Pasteurröhrchen angelegt und unter gewöhnlichen Kulturbedingungen im Brutschrank kultiviert. Die Präparate wurden mit Methanol-Eisessig 3+1 fixiert, luftgetrocknet und nach Feulgen oder mit Giemsalösung gefärbt.
Die Deckglaspräparate dienten als Kontrolle, um mögliche, durch die Verhältnisse in der Beobachtungskammer bedingte Veränderungen im Zellwachstum und Zellatypien erkennen zu können.

II.5. Färbungen

Zellkerne, deren relativer DNS-Gehalt bestimmt werden sollte,

wurden nach Feulgen gefärbt:
Hydrolyse in nHCl, 60°C, 8 min; kurz in Aqua dest. spülen; 1.5 h Schiffsches Reagenz; dreimal je 5 min SO_2-Wasser; anschließend 30 min in Leitungswasser spülen; nachspülen in Aqua dest. und lufttrocknen; Einschluß in DePeX.

Deckglaspräparate wurden ohne weitere Vorbehandlung mit Giemsalösung gefärbt. Das Färben erfolgte unter mikroskopischer Kontrolle. Einschluß in DePeX.

II.6. Cytophotometrische Messungen

Der Farbstoffgehalt der feulgengefärbten Zellkerne (= relativer DNS-Gehalt) wurde in Arbeitseinheiten mit dem integrierenden Mikrodensitometer (Fa. Barr & Stroud, Glasgow, Schottland) gemessen. Die Messungen erfolgten bei einer Wellenlänge von 540 nm.
In jedem Präparat wurde der Durchschnitt des relativen DNS-Gehaltes von 20 vermutlich diploiden Rekonstruktionskernen als 2c und der Durchschnitt von 20 Prophasekernen als 4c bezeichnet. Die so gewonnenen Referenzwerte ermöglichten es, die gemessenen Arbeitseinheiten von Zellen desselben Zellzyklusstadiums einer bestimmten Ploidie zuzuordnen.

II.7. Mikroskop und Filmmaterial

Lebendbeobachtungen und mikroskopische Untersuchungen wurden mit dem Photomikroskop II der Fa. Zeiss durchgeführt.
Als Filmmaterial fanden Verwendung: Ilford FP 4, 22 DIN für die Lebendbeobachtungen und Agfapan 25 für alle übrigen Aufnahmen.

III. Ergebnisse

III.1. Gesamttabelle der Lebendbeobachtungen

In der folgenden Liste sind die beobachteten Mitosen ein-, zwei- und dreikerniger Zellen der euploiden und der aneuploiden Kultur aufgeführt.
Das ursprüngliche Ziel der vorliegenden Arbeit war, eine möglichst große Zahl mehrpoliger Mitosen in der Lebendbeobachtung zu verfolgen und den DNS-Gehalt der Tochterzellen zu bestimmen, um damit über die in der Literatur vorhandenen Daten hinausreichende Befunde über die Aufteilung der Chromosomen zu gewinnen. Wegen dieser anfänglichen, engen Abgrenzung des Themas, aber auch aus technischen Gründen, sind die Angaben in der folgenden Zusammenstellung zum Teil lückenhaft.
Einzelbeobachtungen nicht-mitotischer Zellen wurden in die Liste nicht aufgenommen; sie werden in den entsprechenden Kapiteln gesondert besprochen. Ebenso wurde auf die Wiedergabe derjenigen Zell- und Mitosebeobachtungen verzichtet, die aufgrund offensichtlicher Fehler bei der Lebendbeobachtung (z.B. zu hohe Temperatur, zu lange und zu intensive Belichtung, unsteriles oder unbrauchbares Medium etc.) zum Zelltod einzelner oder aller Zellen führten.

III.1 a) Verzeichnis der Abkürzungen

Mon	Kulturalter in Monaten
H	Herkunft der untersuchten Zelle Z
Z	Zelle, deren Interphase, Mitose und Tochterzellen näher untersucht wurden
SZ	Schwesterzelle von bereits aufgelisteter Zelle
F_1	Tochterzelle (F_1^a, F_1^b, F_1^c . . .)
F_2	Enkelzelle (F_2^a, F_2^b, F_2^c . . .)
1k, 2k, 3k ...	einkernige, zweikernige, dreikernige Zelle
1n, 2n, 3n ...	haploid, diploid, triploid (Ploidieberechnung aufgrund des relativen DNS-Gehalts der Tochterkerne)
poly	polyploid (eine präzise cytophotometrische Ploidiebestimmung war hier aufgrund der Größe und Form der Zellkerne nicht möglich)
1c, 2c, 3c ...	relativer DNS-Gehalt des Zellkerns
n+, n-	hyperploid, hypoploid
(poly), (4n) ..	Ploidie geschätzt aufgrund ungenauer Messungen des relativen DNS-Gehalts aller Tochterkerne der betreffenden Zelle
M	Metaphasenfigur
1str, 2str, 3str ...	Zahl der Metaphasenstrahlen (= Teil-"Äquatorialplatten" einer V-, Y-, X- oder sternförmigen Metaphasenfigur)
2pol, 3pol,4pol ...	Zahl der Spindelpole
ZZ	Dauer des Zellzyklus von Anaphase der Herkunftszelle H bis Anaphase der Zelle Z
KB	Kernbewegungen im letzten Interphasedrittel (Intensität: +, ++, +++)
IR	Internukleäre Region bei mehrkernigen Zellen
syn asyn	synchroner, asynchroner Prophasenbeginn (bei mehrkernigen Zellen)

Mit	Mitosedauer (min)
P	Prophase
PM	Prometaphase
M	Metaphase
A	Anaphase
T	Telophase
A-Cyt	Zeitraum vom Beginn der Anaphase bis zur vollständigen Cytokinese
SB	Spindelbildung
direkt	die scheinbar ungeordneten prometaphasischen Chromosomen werden unmittelbar in eine Mitosefigur eingeordnet, die sich bis zum Beginn der Anaphase nicht mehr ändert, bzw. die
direkt 3str - 1str	die Zahl ihrer Strahlen (hier: 3) im Lauf der späten Prometaphase erhöht oder (hier) reduziert
suc	successiv werden die Strahlen einer mehrstrahligen Mitosefigur gebildet
HS	Hohlspindel; die Chromosomen sind in der Äquatorialplatte kranz- bzw. hohlzylinderförmig angeordnet
konfl	aus einer Randposition konfluieren die Chromosomen zum Zentrum
konfl 3str - 1str	die Chromosomen konfluieren zu einer dreistrahligen Mitosefigur, die sich bis zur Anaphase in eine einstrahlige Figur umordnet
mn	Mikronukleus
Fus	Fusion von Telophasenteilen
*	keine Angaben möglich
Bem.	Bemerkungen
Abb. Tab.	Befunde verwendet in Abb..... oder Tab....

III.1 b) Tabelle 1 a: Einkernige Zellen der aneuploiden Kultur

1) 39.3 Mon; H: Nr.212 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.1+2;
Z: SZ Nr.2, 1k/*n, ZZ 9.95 h, KB*, Mit*, SB direkt,
M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k/*n (Kerne gleich groß),
Abb: 37 (vgl.auch 14)

2) 39.3 Mon; H: Nr.212 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.1+2;
Z: SZ Nr.1, 1k/*n, ZZ 11.38 h, KB*, Mit*, SB direkt,
M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k/*n (Kerne gleich groß),
Abb: 37 (vgl.auch 14)

3) 40.0 Mon; H: Nr.213 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.3+4;
Z: SZ Nr.4, 1k/*n, ZZ 15.12 h, KB*, Mit*, SB*,
M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k/*n (Kerne gleich groß),
Abb: 37

4) 40.0 Mon; H: Nr.213 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.3+4;
Z: SZ Nr.3, 1k/*n, ZZ 15.75 h, KB*, Mit*, SB*,
M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k/*n (Kerne gleich groß),
Abb: 37

5) 40.03 Mon;H: Nr.193 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.5+*;
Z: SZ Nr.*, 1k/4n, ZZ 15.80 h, KB +++, Mit ca.130,
P 55, PM+M 33, A 5, T 37..., SB direkt - 1str,
M 1str/4pol (Parallelmitose), F_1: 2 x 2k: 2c+2c u.
2c+2c,
Abb: 8b, 58a

6) 41.2 Mon; H: Nr.210 2k/(3n?), M 1str/3pol, F_1: Nr.6+211;
Z: SZ Nr.211, 1k+mn/ca.4n, ZZ 26.92 h, KB*, Mit*,
syn (mn wird in gemeinsame M integriert), SB
1str-knick-2str, M 3str/4pol? (evtl. V-Mitose),
Fusion von 2 Telophaseteilen (4c + 3 x mn)?,
F_1: 2 x 1k + 1 x 2k: 2c u. 4c+3mn u. 1c+1c,
(1c+1c)-Zelle ist lebensfähig,
Abb: 11b, 41, 58f, (vgl.auch 25)
Tab: 45

7) 42.07 Mon;H: Nr.214 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.7+8;
Z: SZ Nr.8, 1k/*n, ZZ 10.22 h, KB*, Mit*, SB
HS konfl-1str bip.Mit., M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k:
Kerne gleich groß,
Abb: 37 (vgl.auch 15)

8) 42.07 Mon; H: Nr.214 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.7+8;
Z: SZ Nr.7, 1k/*n, ZZ 12.00 h, KB*, Mit*, SB
HS konfl-1str (ebenso wie SZ Nr.7 !), M 1str/2pol,
F_1: 2 x 1k/*n (Kerne gleich groß),
Abb: 37 (vgl.auch 15)

9) 43.03 Mon; H: Nr.203 2k/(21n), M 1str/4pol (Parallelmitose),
F_1: Nr.9+10+204;
Z: SZ Nr.10+204, 1k/ca.6n, ZZ 13.50 h, KB*, Mit 65,
SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 6c u. 6^+c
Abb: 40 (vgl.auch 14)

10) 43.03 Mon; H: Nr.203 2k/(21n), M 1str/4pol (Parallelmitose),
F_1: Nr.9+10+204;
Z: SZ Nr.9+204, 1k/ca.6n, ZZ 14.53 h, KB*, Mit 55,
SB*, M 3str/5pol, F_1: 1 x 2k u. 1 x 3k: 1^+c+1^+c
u. 1^+c+4^+c+4c, (1^+c+1^+c)-Zelle ist lebensfähig,
Abb: 40, Tab: 45

11) 43.03 Mon; H: Nr.51 3k/(poly), M 3str/5pol, F_1: Nr.11+12+206;
Z: SZ Nr.12+206, 1k/ca.6n, ZZ 12.88 h, KB*, Mit 64,
SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 6^+c u. 6^+c,
Abb: 49 (vgl.auch 14)

12) 43.03 Mon; H: Nr.51 3k/(poly), M 3str/5pol, F_1: Nr.11+12+206;
Z: SZ Nr.11+206, 1k/6n, ZZ 12.85 h, KB*, Mit 43,
SB direkt, 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 6c u. 6c,
Abb: 49 (vgl.auch 14)

13) 43.03 Mon; H: Nr.215 2k/(5n), M 1str/4pol, F_1: Nr.13+49, F_2:Nr.1
Z: SZ Nr.49, 1k/5n, ZZ 29.25, KB*, Mit 95, SB direkt,
M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 5c u. 5c,
Abb: 51

14) 43.03 Mon; H: Nr.49 3k/5n, 1str/2pol, F_1: Nr.14+*;
Z: SZ*, 1k/5n, ZZ 9.75, KB*, Mit 75, SB*, M 1str/2pol
F_1: 2 x 1k: 4^+c u. 6^-c+mn,
Abb: 51

15) 42.8 Mon; H: Nr.* 2k/(poly), 1str?/4pol, F_1: Nr.15+*;
Z: SZ*, 1k/4n, ZZ 12.08 h, KB*, Mit*, SB 1str -
knick - 2str, M 3str?/3pol (evtl. V-Mitose),
F_1: 3 x 1k: 2c u. 2c u. 4c
Abb: 10a (vgl.auch 25), 58 d

16) 42.8 Mon; H: Nr.199 2k/(3-4n), M 1str/3pol, F_1: Nr.16+200;
Z: SZ Nr.200, 1k/3n, ZZ 15.00 h, KB +++, Mit 60,
P 15, PM 15, M 12, A 5, T 13, SB direkt,
M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 3c u. 3^-c,
Abb: 45 (vgl.auch 15)

17)
18) 42.8 Mon; Fusion von Nr.17+18 nach 1.5 h (nach Telophase) zu Nr.200
H: Nr.199 2k/(3-4n), M 1str/3pol, F_1: Nr.16+200;
Z: SZ Nr.16, !2k/ca.4n, ZZ 16.83 h, KB +++, syn,
Mit ca.90, P 30, PM+M 32, A 5, T*, SB direkt?,
M 3str/4pol, F_1: 2 x 1k u. 1 x 2k: 2c u. 3^-c u.
1c+3c (haploider Zellkern! Zelle lebensfähig),
Abb: 45

III.1 c) Tabelle 1 b: Einkernige Zellen der euploiden Kultur

19) 17.0 Mon; H: Nr.116 2k/*n, M 1str/2pol, F_1: Nr.19+*;
Z: SZ Zelltod nach 15 h (nach Telophase), 1k/*n,
ZZ 16.20 h, (intensive Belichtung), KB*, Mit*, SB*,
M 1str/3pol (Parallelmitose?), F_1: 3 x 1k:
3c u. 3c u. (Verlust!),
Abb: 56

20) 19.0 Mon; H: Nr.111 2k/(poly), M 1str/4pol, F_1: Nr.20+*+*;
Z: SZ*, ZZ 13.83 h, KB*, Mit*, SB*, M 4str/4pol,
F_1: 4 x 1k ,
Abb: 55

21) 19.13 Mon;H: Nr.112 2k/(poly), M 3str/4pol, F_1: Nr.21+22+*,
Z: SZ Nr.22, 1k/6n, ZZ 12.25 h, KB*, Mit*, SB*,
M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 4c u. 4c u. 4c,
Abb: 11h, 54

22) 19.13 Mon;H: Nr.112 2k/(poly), M 3str/4pol, F_1: Nr.21+22+*,
Z: SZ Nr.21, 1k/*n, ZZ 13.66 h, KB*, Mit*, SB*,
M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k,
Abb: 54

23) 21.07 Mon; H: Nr.79 2k/*n, M 1str/2pol, F_1: Nr.23+24;
Z: SZ Nr.24, 1k/4n, ZZ 15.33 h, (intensive Belicht.), KB*, Mit*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 8a (vgl.auch 14), 37, 58c

24) 21.07 Mon; H: Nr.79 2k/*n, M 1str/2pol, F_1: Nr.23+24;
Z: SZ Nr.23, 1k/*n, ZZ* (Zelltod 14 h nach Telophase), (intensive Belichtung! vgl. Nr.23!),
Abb: 37

25) 21.13 Mon; H: *
Z: SZ*, 1k/4n, ZZ*, KB*, Mit*, SB*, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 4c u. 2c u. 2c,
Abb: 11a, (vgl. 58d)

26) 21.13 Mon; H: *
Z: SZ*, 1k/3n, ZZ*, KB*, Mit*, SB*, M (3?)4str/3pol !, (Pseudotripolare Mitose), F_1: 3 x 1k: 2c u. 2c u. 2c,
Abb: 12e

27) 21.13 Mon; H: *
Z: SZ*, 1k/4n, ZZ*, KB*, Mit*, SB*, M 4str/4pol, F_1: 4 x 1k: 2c u. 2c u. 2c u. 2c,
Abb: 13a, 58i

28) 21.23 Mon; H: Nr.114 2k/(poly), 1str/2pol, F_1: Nr.28+*,
Z: SZ nicht weiterverfolgt, 1k/*n, KB*, ZZ 12.75 h, Mit*, SB*, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: Alle F_1 Zelltod 2 - 4h nach Telophase (bei intensiver Belicht.
Abb: 57

29) 21.33 Mon; H: Nr.90 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.29+30;
Z: SZ Nr.30, ZZ 12.25 h, 1k/4n, KB*, Mit 55, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 37 (vgl.auch 14), 8a, 58c

30) 21.33 Mon; H: Nr.90 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.29+30;
Z: SZ Nr.29, 1k/4n, ZZ 14.58, KB*, Mit 60, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 8a (vgl.14), 37, 58c

31) 21.07 Mon; H: Nr.89 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.31+32;
Z: SZ Nr.32, 1k/4n, ZZ 14.6 h, (intensive Belicht.), KB*, Mit 215, P 120, PM+M 66, A 9, T 20 (während P....A nur wenig belichtet!), SB HS - konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 8a, (vgl.auch 15), 37, 58c

32) 21.07 Mon; H: Nr.89 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.31+32;
Z: SZ Nr.31, 1k/4n, ZZ 18.75 h, KB*, Mit 40 (! vgl. Nr.31 - hier jedoch nur geringe Belichtung, Mit. nicht belichtet), P*, PM*, M*, A 5, T 15, SB direkt?, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 8a, (vgl.14), 37, 58c

33) 22.03 Mon; H: Nr.84 2k/(poly), M 1str/2pol, F_1: Nr.33+Zelltod;
Z: SZ Zelltod 13.3 h nach Telophase, 1k/4n, ZZ 15.8 h, (intensive Belichtung), KB*, Mit*, SB konfl 3str-2str-1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 8a, (vgl.auch 28), 58c

34) 22.73 Mon; H: Nr.109 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.34+35;
Z: SZ Nr.35, 1k/4n, ZZ 18.36 h, KB*, Mit*, SB HS - konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 8a, (vgl.auch 15), 38, 58c

35) 22.73 Mon; H: Nr.109 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.34+35;
Z: SZ Nr.34, 1k/4n, ZZ 19.36 h, KB*, Mit*, SB*, M 4str/4pol, F_1: 4 x 1k: 2c u. 2c u. 2c u. 2c,
Abb: 13a, 38, 58i

36) 22.73 Mon; H: Nr.107 2k/3n, M 1str/3pol (Parallelmitose?), F_1: Nr.36+37;
Z: SZ Nr.37, 1k/4n, ZZ 19.00 h, KB*, Mit*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c u. 4c,
Abb: 8a, (vgl.14), 43, 58c

37) 22.73 Mon; H: Nr.107 2k/3n, M 1str/3pol (Parallelmitose?), F_1: Nr.36+37;
Z: SZ Nr.36, 1k/2n, ZZ 20.0 h, KB*, Mit*, SB*, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2c u. 2c,
Abb: 43

38) 22.8 Mon; H: *
Z: SZ*, 1k/4n, KB*, Mit*, SB*, M 3str/4pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 1c+1c u. 2c u. 4c, (1c+1c)-Zelle ist lebensfähig,
Abb: 11b, 58 f
Tab: 45

39) 22.17 Mon; H: Nr.91 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.39+40;
Z: SZ Nr.40, 1k/4n, ZZ 14.33 h, KB*, Mit*, SB HS konfl-1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 4c,
Abb: 8a, (vgl.15), 37, 58c

40) 22.17 Mon; H: Nr.91 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.39+40;
Z: SZ Nr.39, 1k/4n, ZZ 16.0 h, KB*, Mit*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 4c,
Abb: 8a, (vgl. 14), 37, 58c

41) 22.93 Mon; H: Nr.92 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.41+42;
Z: SZ Nr.42, 1k/4n, ZZ 14.08 h, KB*, Mit*, SB konfl 2str-1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 4c,
Abb: 8a, (vgl. 27), 37, 58c

42) 22.93 Mon; H: Nr.92 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.41+42;
Z: SZ Nr.41, 1k/4n, ZZ 15.92 h, KB*, Mit*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 4c,
Abb: 8a, (vgl. 14), 37, 58c

43) 22.43 Mon; H: Nr.110 2k/4n, M 3str/4pol, F_1: Nr.43+44+45;
Z: SZ Nr.44+45, 1k/2n, ZZ 15.25 h, KB*, Mit ca.50, P 12, PM*, M*, A 4, T*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 2c,
Abb: (vgl. 14), 39

44) 22.43 Mon; H: Nr.110 2k/4n, M 3str/4pol, F_1: Nr.43+44+45;
Z: SZ Nr.43+45, 1k/2n, ZZ 14.00 h, KB*, Mit ca.50, P*, PM+M 25, A 4, T*, SB HS konfl - 1str, F_1: 2 x 1k: 2 x 2c,
Abb: (vgl. 15), 39

45) 22.43 Mon; H: Nr.110 2k/4n, M 3str/4pol, F_1: Nr.43+44+45;
Z: SZ Nr.43+44, 1k/4n (entstanden durch Fusion von 2 Telophaseteilen), ZZ 11.25 h, KB*, Mit ca.65, P 15, PM+M 30, A 3, T*, SB HSkonfl 3str,

M 3str/3pol, F_1: 1 x 2k u. 1 x 1k: 2c+2c und 4c,
Abb: 11a, (vgl. 19), 39, 58d

46) 20.13 Mon; H: Nr.93 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.46+47;
Z: SZ Nr.47, 1k/4n, ZZ 15.45 h, KB*, Mit *, SB
HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 4c,
Abb: 8a, (vgl. 15), 37, 58c

47) 20.13 Mon; H: Nr.93 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: Nr.46+47;
Z: SZ Nr.46, 1k/4n, ZZ 17.16 h, KB*, Mit*, Sb
HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 4c,
Abb: 8a, (vgl. 15), 37, 58c

48) 12.3 Mon; H: *
Z: SZ*, 1k/*n, ZZ*, KB +++, Mit ca.50, P 10, PM*,
M*, A 6, T*, SB konfl 3str, M 3str/3pol, F_1:
3 x 1k: Verlust

III.1 d) Tabelle 1 c: Dreikernige Zellen der aneuploiden Kultur

49) 43.03 Mon; H: Nr.215 2k/5n, M 1str/4pol, F_1: Nr.13+49, F_2:Nr.14;
Z: SZ Nr.13, ZZ 18.42 h, 3k/5n, KB +++/++, Mit 84,
syn, P 20, PM+M 29, A 5, T 30, SB HS konfl 1str,
M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 5c und 5c,
Abb: (vgl. 15), 16, 51

50) 39.10 Mon; H:*
Z: SZ*, 3k/(5-6n), ZZ*, KB*, asyn, Mit ca.300,
P ca.195, P+PM 46, A 8, T 55, SB*, M *str/3pol,
F_1: 3 x 1k: 4c u. 3c u. 4c (wie ist so etwas
überhaupt rechnerisch möglich? Vgl. III.22 a),
Bem: Asynchroner Prophasebeginn UND sehr lange P-Dauer!
Abb: *

51) 43.03 Mon; H: Nr.205 2k/(poly), M 1str/5pol, F_1: Nr.51+*,
F_2: Nr.11+12+206+*;
Z: SZ *, 3k/poly, ZZ 12.20 h, syn, KB*, Mit ca.90,
P 25, Pm+M 37, A 6, T*, SB konfl 3str,
M 3 str/5pol, F_1: 3 x 1k und 1 x 2k: *c,
ff Enkelzellen!
Abb: (vgl. 17), 49

III.1 e) Tabelle 1 d: Zweikernige Zellen der euploiden Kultur

52) 5.33 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB +, IR: Kernmembran wellenförmig gebogen, asyn, Mit 93, P 15, PM 25, M 3, A 8, T 42, A-Cyt 23, SB 4 Sterne - 3str ('two-group metaphase'), M 3str/3pol + Nebenfigur!, F_1: 3 x 1k, rel. DNS-Gehalt nicht bestimmt, Kerne ungefähr gleich groß,
Abb: 20

53) 7.7 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR: Kernmembran wellenförmig gebogen, syn, Mit 97, P 35, PM 23, M 9, A 9, T 21, A-Cyt 24, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 14, 58c

54) 7.77 Mon; H: *
Z: 2k/4n, IR: Kernmembran wellenförmig gebogen, syn, Mit 86, P 24, PM 18, M 9, A 6, T 29, A-Cyt 25, SB direkt, M 1str/2pol, Spindel steht schräg, richtet sich während der späten Metaphase auf, 'Kippen' der Spindel?, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 14, 58c

55) 8.1 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 88, P 15, PM 36, M 7, A 13, T 24, A-Cyt 26, SB konfl 4str - 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Bem: in der späten Prometaphase scheinen primär 4 Pole vorhanden zu sein, dann rücken scheinbar je zwei benachbarte Polregionen zusammen und bilden einen Doppelpol (simultan dazu langsame 'Retraktion' von zwei gegenüberliegenden Strahlen),
Abb: 8a, 29, 58c

56) 8.67 Mon; H: *
Z: 2k/4n, IR: wie Nr.54, KB*, syn, Mit 117, P 23, Pm 29, M 4, A 8, T 53, A-Cyt 68, SB direkt,

M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,

Bem: Durch Mitose entstehen mehrere Cytoplasmateilchen: Re-fusion mit Tochterzellen oder Absterben 2 - 4 h nach Telophase,

Abb: 8a, 14, 58c

57) 8.77 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB +, IR wie Nr.54, syn, Mit 101, P 25, PM 28, M 3, A 9, T 36, A-Cyt 65, SB HS konfl - 3str, M (2)3?str/4pol (V-Mitose ?), F_1: 2 x 1k u. 1 x 2k: 2c und 4c und 1c+1c,

Bem: Zelle mit 2 haploiden Kernen lebensfähig
M: typischer Übergang von einer scheinbar 3str Figur zur tatsächlichen Figur: (geknickte) V-Mitose,

Abb: 10b, 19,58f

Tab: 45

58) 8.77 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, asyn, Mit 128, P 10, PM 43, M 4, A 13, T 58, A-Cyt 64, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,

Abb: 8a, 14, 58c

59) 8.8 Mon; H: *

Z: 2k/3n, KB*, IR*, syn, Mit 133, P 8, PM 63, M 4, A 6, T 52, A-Cyt 43, SB 4 Sterne-4str-3(2?)str, M (2)3?str/3pol (V-Mitose mit Fus von 2 Teloph.-teilen der <u>konvexen</u> Figurseite), F_1: 2 x 1k: 3c und <u>3</u>c (Fus. von 2 Teilen),

Abb: 10e, (34)

60) 8.9 Mon; H: *

Z: 2k/8n, KB*, IR*, syn, Mit 123, P 11, PM 29, M 5, A 18, T 60, A-Cyt 89, SB suc 3str, M 3str/3pol (V-Mitose?), F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 7c und 3.5c + 5.5c,

Bem: 7c-Kern an der konkaven Figurseite moglicherweise durch Kernfusion entstanden,

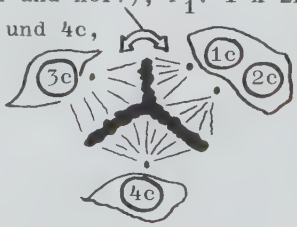
Abb: 18

61) 9.0 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 111, P 15, PM 9, M 32, A 7, T 48, A-Cyt 38, SB konfl 3str - 2str - 1str, M 1str/3pol: prim. V-Mitose dann Parallelmitose, F_1: 3 x 1k: 2c und 2c und 4c,
Abb: 8c, (vgl. 28!), 58b

62) 10.07Mon; H: *
Z: 2k/5n, IR: sehr starkes Oscillieren der Kernmembran!, KB*, syn, Mit 95, P 20, PM 22, M 10, A 7, T 36, A-Cyt 45, SB direkt 3str, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 2c und 4c und 4c,
Abb: 11g, 17

63) 10.2 Mon; H: *
Z: 2k/8n, (vgl. hiermit Mitose Nr.70!), KB*, IR*, asyn, Mit 78, P 18, PM 29, M 6, A 8, T 17, A-Cyt 18, SB direkt, M 1str/2(4?)pol (evtl. Parallelmitose mit nachfolgender Fusion von je 2 Telophaseteilen), F_1: 2 x 1k: 8c und 8c,
Abb: 14

64) 10.3 Mon; H: *
Z: 2k/5n, KB*, IR*, asyn, Mit 123, P 17, Pm 55, M 23, A 10, T 18, A-Cyt 28, SB direkt 3str, M 3str/4pol, (ein Strahl pendelt während der späten Metaphase noch hin und her!), F_1: 1 x 2k und 2 x 1k: 1c+2c und 3c und 4c,
Abb: 11i, 17,
Tab: 45



65) 12.7 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR*, asyn, Mit 170!, P 20, PM 43, M 15, A 7, T 85, A-Cyt 92, SB direkt, M 1str/2pol F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 14, 58c
Bem: Lange Mitose! Mitotische Zelle NICHT kugelförmig: dehnt und streckt sich.

66) 12.7 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 95, P 10, PM 40, M 5, A 6, T 34, A-Cyt 52, SB suc 3str, M 3str/3pol, (Figur scheint primär schräg zu stehen; 'Kippen'?), F_1: 3 x 1k: 2c und 3c und 3c,
Abb: 11f, 18, 58g

67) 12.77Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 78, P 15, PM+M 33, A 6, T 24, A-Cyt 45, SB suc 2(?)str, M (3?)2str/4pol, (V-Mitose), F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 1c (!) und 3c und 2c+2c,
Bem: 1c-Zelle lebensfähig
Abb: 10d, 58h,
Tab: 45

68) 12.77Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 73, P 12, PM 22, M 10, A 9, T 20, A-Cyt 35, SB konfl 2str-1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 27, 58c

69) 12.77Mon; H: *
Z: 2k/*n, KB*, IR*, syn, Mit 70, P 15, PM 24, M 4, A 7, T 20, A-Cyt 30, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod bei reg. Belichtung!
Abb: 14
Bem: Nach Telophase wurden Tochterkerne immer kompakter, Zelltod 2-3 h nach Telophase

70) 4.93 Mon; H: *
Z: 2k/8n (vgl. hiermit Mitose Nr.63!), KB*, IR*, syn, Mit 106, P 21, PM 47, M 3, A 6, T 29, A-Cyt 82, SB direkt - Etagenmitose, M 2x1str/2x1pol (Etagenmitose), nachfolgende Doppel-Kernfusion, F_1: 2 x 1k: $\underline{8}$c (Fus!) und $\underline{8}$c (Fus!),
Abb: 13d, 22

71) 12.77Mon; H: *
Z: 2k/6n, intensive Belichtung +++!, KB +++, IR: breiter internukleärer Spalt zu Beginn der Pro-

phase, asyn, Mit (Kern I)518 / (KernII) 278, P 300/60, Pm+M 100, A 8, T 110, A-Cyt 151, SB*, M 3str/5(?)pol, F_1: 2 x 3k: 2c+3c+3c und 2c+0.5c+1.5c,

Abb: 60b

72) 20.63Mon; H: *

Z: 2k/*n, KB*, IR*, syn, Mit 99, P 15, PM 36, M 2, A 6, T 40, A-Cyt: keine Cytokinese, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod 1 - 4 h nach der Telophase

Abb: 14

73) 20.87Mon; H: *

Z: 2k/6n, KB +++, IR*, syn, Mit 81, P 27, PM+M 35, A 7, T 12, A-Cyt 30, SB HS suc 3str, M 3str/4pol, F_1: 4 x 1k: 2c und 6c und 1.5c und 2.5c, = 'Begrenzte Fehlverteilung' (Kap. III.24.)

Abb: 19, 60d

74) 20.9 Mon; H: *

Z: 2k/*n, KB*, IR*, syn, Mit 98, P 26, PM 15, M 7, A 10, T 40, A-Cyt*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod sofort! / nach 3-5h,

Abb: 14

75) 20.9 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 108, P 30, PM 18, M 9, A 10, T 41, A-Cyt*, SB konfl 3str, M 2 (3?)str/4pol (V-Mitose), F_1: 4 x 1k: 2c und 2c und 2c und 2c,

Abb: 10c, 58e

76) 21.03Mon; H: *

Z: 2k/3n, KB*, IR*, syn, Mit 78, P 18, PM+M 33, A 3, T 24, A-Cyt 53, SB HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 3c und 3c,

Abb: 15

77) 21.03Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 85, P 15, PM 28, M 8, A 4, T 30, A-Cyt*, SB HS konfl 1str, M 1str/

2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,

Abb: 8a, 15, 58c

78) 21.03Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 85, P 24, PM 11, M 23, A 5, T 22, A-Cyt 27, SB konfl 1str knick - 2str - 3str, M 2 (3?)str/3pol, (V-Mitose), F_1: 3 x 1k: 2c und 2c und 4c (Fus?),

Abb: 10a, 23, 24, 58d

79) 21.07Mon; H: *

Z: 2k/*n, KB*, IR*, asyn, Mit 97, P 39, PM+M 16, A 7, T 35, A-Cyt*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Nr. 23 und 24,

Abb: 8a, 14, 37, 58c

80) 21.27Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB +++ 90 min lang, dann Prophasebeginn, IR: vor Prophase überlappen sich die Kerne!, syn, Mit 137, P 22, PM+M 38, A 10, T 67, A-Cyt*, SB HS suc 3str, M 3str/4pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 2c und 2c und 2c+2c,

Abb: 19, 58e

81) 21.37Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB ca.100 min lang intensiv: +++, dann STOPP und Prophasebeginn, IR: internukleärer Spalt verschwindet ganz langsam - vollständig verschwunden zu Beginn der Prophase, asyn, Mit 90, P 17, PM+M 22, A 4, T 47, A-Cyt*, SB HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,

Abb: 8a, 15, 58c

82) 22.8 Mon; H: *

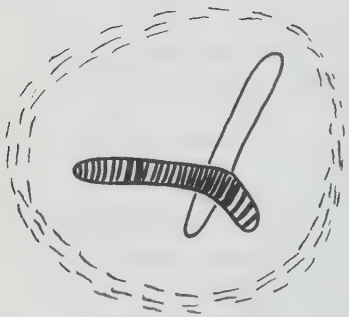
Z: 2k/*n, KB*, IR*, Mit*, P 25, PM 56, M 6, A 8, T *: Zelltod während später Telophase, Mitosebeginn syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k,

Abb: 14, 58c

83) 21.13 Mon; H: *

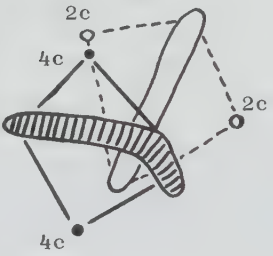
Z: 2k/6n, KB*, IR*, syn, Mit ca.100, P 37, PM*, M 40, A 4, T*, SB suc 4(?)str (Etagenmitose!), M 3(4?)str/3pol (fraglich!) oder 2x1str/2x2pol (wahrscheinlich!), F_1: 2 x 1k und 1 x 1k + mn: 2c und 4c und 5.5c + 0.5c,

Abb: 13e, 60c



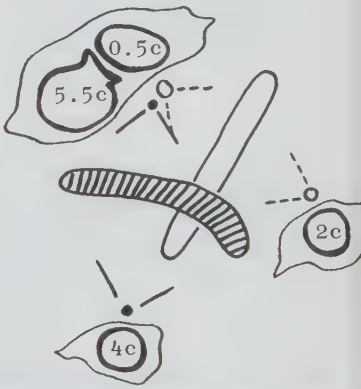
A: Halbschematisch

Phasenkontrastbild
2 Ebenen = 2 übereinanderliegende Metaphasen
Spindelpole nicht zu erkennen



B: Rekonstruiert

Theoretisch gehen aus 'schwarzen' Polen 1k 4c-Tochterzellen und aus 'hellen'Polen 1k 2c-Tochterzellen hervor



C: Halbschematisch

Unvollständige Fusion von 4c- und 2c-Telophasenteilen der beiden oberen, eng benachbarten Pole

Phasenkontrastbild
Größe der Zellkerne nicht maßstabsgetreu

siehe auch Abb. 13e

84) 22.03 Mon; H: *

Z: 2k/*n, KB +++ : Kerne drehen sich fast um 180° umeinander, Stopp zu Prophasebeginn, IR*, syn, Mit*, A 4, T 25, SB direkt, F_1: 2 x 1k: 4c und (4c ?), Tochterzelle Nr.33,

Abb: 14, 37

85) 22.37 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn, Mit 95, P 12, PM+M 38, A 5, T 40, SB HS konfl 3str, F_1: 3 x 1k:

2c und 3c und 3c; Metaphase 3str/3pol,

Abb: 11f, 19, 58g

86) 22.37 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB +++ : Kerne überlappen sich, IR*, syn, Mit*, A 7, SB direkt (Parallelmitose), M 1str/4pol, F_1: 1 x 2k und 1 x 3k: 'Begrenzte Fehlverteilung': 2c+2c und 2c+1.5c+0.5c,

Abb: 8e, 60a

87) 22.07 Mon; H: *

Z: 2k/5n, KB*, IR: Kernmembran wellenförmig, asyn, Mit ca.110, P 26, PM+M 41, A 6, T 37, SB HS suc Etagenmitose, M 2x1str/2x2pol (Etagenmitose mit nachfolgender Doppel-Kernfusion; vgl. auch Nr.83!), F_1: 2 x 1k: 5c und 5c, Kerne leicht hantelförmig,

Abb: 13c

88) 14.2 Mon; H: *

Z: 2k/3n, KB*, IR*, syn, Mit ca.120, P*, PM+M 30, A 5, T*, SB direkt?, M 3str/3pol - jedoch Pseudotripolare Mitose!, F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 3c und 1c + 2c,

Abb: 12b, Tab. 45

89) 26.07 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, Prophasebeginn*, Mit ca.75, P*, PM*, M*, A 4, T*, A-Cyt 17, SB HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4n und 4n, Zellen Nr.31+32,

Abb: 8a, 15, 37, 58c

90) 21.33 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, Prophasebeginn*, Mit ca.90, Mitosephasen*, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4n und 4n, Nr. 29+30,

Abb: 8a, 14, 37, 58

91) 22.17 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB*, IR*, Mit*, A 9, A-Cyt 25, SB *,

F_1: 2 x 1k: 4n und 4n, Nr.39+40,

Abb: 8a, 58c

92) 22.93 Mon; H: *

Z: 2k/4n, asyn, SB HS konfl 1str 4pol, M 1str/4pol (Parallelmitose), F_1: 2 x 1k: 4n und 4n, Nr.41,42 Fusion von je zwei benachbarten Telophaseteilen!

Abb: 8d, 37, 58a

93) 20.13 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB +++, IR: Internukleärer Spalt!, asyn!, Mit 117, SB konfl 3str - 2str - 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4n und 4n (Nr.46+47),

Abb: 8a, 37, 58c

94) 22.1 Mon; H: *

Z: 2k/4n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,

Abb: 14

95) 21.13 Mon; H: *

Z: 2k/*n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und *c: Zelltod 14 h nach Anaphase, Schwesterzelle lebensfähig,

Abb: 14

96) 21.3 Mon; H: *

Z: 2k/*n, intensive kontinuierliche Belichtung, SB HS konfl 3str, M 3str/4pol - jedoch Pseudotripolare Mitose, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: Zelltod 4, 8 und 10 h nach Anaphase: Tochterzellen primär lebensfähig- nach einigen Stunden dann Kugelform und folgend Zelltod,

Abb: 19

97) 21.17 Mon; H: *

Z: 2k/*n, intensive Belichtung, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod 1.25 und 2.5 h nach Anaphase

Abb: *

98) 9.03 Mon; H: *

Z: 2k/4n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,

Abb: 8a, 14, 58c

99) 9.03 Mon; H: *
Z: 2k/6n, KB +++, syn, SB suc 3str, M 3str/3pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 8c (Kernfusion!), durch Fus entstandener Zellkern typisch gelappt:

vgl. Abb.1 !
Pseudoamitose

Abb: 18

100) 10.2 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, SB direkt, Mit ca.87, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 14, 58c

101) 10.43 Mon; H: *
Z: 2k/6n, KB +++, asyn, Mit ca.120, P 30, SB direkt, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 3 x 4c, vgl. mit Zelle Nr.99,
Abb: 11h, 17

102) 10.67 Mon; H: *
Z: 2k/2(!)n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2c und 2c; Mitose haploider Zellkerne (2)!,
Abb: 14, Tab. 46

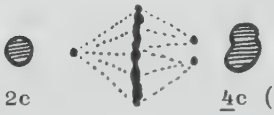
103) 12.77 Mon; H: *
Z: 2k/5n, syn, SB direkt 3str, M 3str/4pol - Pseudotripolare Mitose, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 2c und 3c und 2c+3c,
Abb: 12d, 17

104) 20.9 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, M 4str/4pol, F_1: 4 x 1k: 4 x 2c,
Abb: 13a, 58i

105) 11.3 Mon; H: *
Z: 2k/*n, intensive Belichtung, syn, M 3str/4pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: Zelltod nach 25 - 30 h nach Anaphase,
Abb: *

106) 12.77 Mon; H: *
Z: 2k/*n, intensive Belichtung, syn, M 1str/4pol (Parallelmitose), F_1: Zelltod 0.5, 4.25, 5.0 und 7.25 h nach Anaphase (4 x 1k Tochterzellen),
Abb: *

107) 22.73 Mon; H: *
Z: 2k/3n, syn, T 5, SB direkt 2str - 1str (V-Mitose?), M 1str/4pol (wie Parallelmitose), F_1: 2 x 1k: 2c und $\underline{4}$c (Fus von 2 TT!), Nr.36+37,



Wie ist hier die Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialplatte?

Abb: 43

108) 22.5 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c (Nr.126 , beide Tochterzellen fusionierten 5 h nach Anaphase),
Abb: 8a, 14, 42, 58c

109) 22.73 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c (Nr.34+35),
Abb: 8a, 14, 38, 58c

110) 22.43 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, Mit ca.110, SB direkt 3str, M 3str/4pol, F_1: 3 x 1k: 2c und 2c und $\underline{4}$c (Fus von 2 TT):

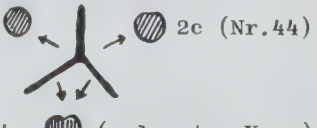


Abb: 11a, 17, 39, 58e

111) 19.0 Mon; H: *
Z: 2k/*n, SB HS konfl - 1str Parallelmitose, M 1str/4pol (Parallelmitose), F_1: 2 x 1k und 1 x 1k, (Tochterzelle Nr.20),
Abb: 55

112) 19.13 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 3str/4pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 4c und (*) und (**), Tochterzellen Nr.21+22+*,
Abb: 54

113) 22.1 Mon; H: *
Z: 2k/*n, IR: Internukleärer Spalt, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und Zelltod nach 13.3 h nach Anaphase,
Abb: 14

114) 21.23 Mon; H: *
Z: 2k/*n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: F_1^a: 4c (fraglich!), F_1^b (Nr.28) teilt sich in drei Enkelzellen, F_1^a Zelltod nach 9.5 h nach Anaphase,
Abb: 14, 57

115) 22.13 Mon; H: *
Z: 2k/*n, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und Zelltod 14.0 h nach Anaphase
Abb: *

116) 17.0 Mon; H: *
Z: 2k/*n, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod (15.0 h nach Anaphase) und lebensfähig (F_1^b),
Abb: 14, 56 (Nr.19)

117) 20.87 Mon; H: *
Z: 2k/6n, Mit 115, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 3c und 4c und 5c,
Abb: 11k

118) 20.87 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 14, 58c

119) 20.87 Mon; H: *
Z: 2k/4n, IR: Internukleärer Spalt bis Prophase beginnt, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 14, 58c

120) 20.87 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR*, syn (?), M 4str/4pol, F_1: 2 x 2k: 2c+2c und 2c+2c, jeweils durch Fus von 2 1k Zellen in der späten Telophase entstanden?
Abb: 13a, 58i

121) 20.87 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, KB*, IR*, SB HS konfl - 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,
Abb: 8a, 15, 58c

122) 12.57 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 1str/3pol, F_1: 3 x 1k: Zelltod nach 5.0, 6.25, 6.75 h bei reg. Belichtung!
Abb: *

123) 11.37 Mon; H: *
Z: 2k/*n, IR: Internukleärer Spalt bis zum Beginn der Prophase, KB*, syn, SB HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod nach 1.5, 3.0 h (nach der Anaphase) bei reg. Belichtung!
Abb: 15

124) 11.47 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 4(?)str/4pol, F_1: 4 x 1k: Zelltod nach 1.0 bis 7.0 h (nach Anaphase) bei kontinuierlicher intensiver Belichtung!
Abb: *

125) 11.3 Mon; H: *
Z: 2k/*n, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod nach 2.0 und 3.75 h (nach Anaphase) bei kontinuierlicher Belichtung,
Abb: *

Nr.126
126) 22.5 Mon; H: Nr.108; entstanden durch Fus von 2 x 1k Zellen (F_1) 5 h nach Anaphase: (Nr.108: 2k/4n, M 4pol/1str)
Z: 'Riesenzelle' mit sehr großen Zellkernen! 2k/8n, ZZ 75.0 h (!), KB: innerhalb von 3 (!) Tagen Kernrotation umeinander (= ca.320°), Mit*, P 10, PM 45, M 12, A*, T*, SB HS konfl 4str - 1str (Parallelmitose), M 1str/4pol (Parallelmitose), F_1: 4 x 1k: 4 x 4c,

Bem: Mutterzelle (Nr.108) und Tochterzelle (Nr.126) bilden beide Parallelmitosen;
Abb: 33, 42

127) 8.2 Mon; H: *
Z: 2k/4n, SB HS konfl - 1str (Parallelmitose), M 1str/3pol, (Parallelmitose), F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 4c und 2c+2c,
Abb: 8c, 58b

128) 21.27 Mon; H: *
Z: 2k/*n, sehr sparsame Belichtung!, KB*, IR: prim. kein internukleärer Spalt - dann langsam Entstehung eines schmalen Spalts - syn - STOPP - nach ca. 6 h Zelltod.

129) 21.27 Mon; H: *
Z: 2k/*n, sehr sparsame Belichtung!, KB ++, IR: wie Nr.128, jedoch Zelltod schon nach 5.5 h, Kernmembran löst sich nicht auf, Ende der Prophase wird nicht erreicht.

130) 7.9 Mon; H: *
Z: 2k/4n, M 3str/4pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 2c und 4c und 1c+1c (!), alle lebensfähig,
Abb: 11b, 58f, Tab. 45

131) 21.87 Mon; H: *
Z: 2k/*n, sehr intensive Belichtung!, KB +++: innerhalb von 3.1 h Kernrotation umeinander um ca. 210^{o}, IR: prim. kein Spalt - dann langsam Spalt sichtbar (Chromosomenkondensation?) - schließlich verschwindet Spalt wieder - Zelltod 300 min nach 'Prophasebeginn'. Durch erhöhte Temperatur bedingt? Licht?
Abb: *

132) 9.1 Mon; H: *
Z: 2k/4n, KB*, IR: Internukleärer Spalt bis zum Prophasebeginn, syn, M 1str/4pol (Parallelmitose), F_1: 4 x 1k: 4 x 2c, vgl. mit F_1 von Nr.133: hier keine wesentlich andere Metaphase, jedoch 2 x 'Zellfusion' von je 2 1k F_1-Zellen!
Abb: 8b, 58a

133) 7.93 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, M 1str/4pol (Parallelmitose), F_1: 2 x 2k: 2c+2c und 2c+2c, vgl. mit Nr.132!
Abb: 8b, 58a

134) 21.13 Mon; H: *
Z: 2k/(hoch-polyploid), 'Riesenzelle' mit folgender abortiver Mitose (?), kontinuierliche, nicht intensive Belichtung, KB ++ mehr als 10 h lang vor Prophasebeginn, IR: Internukleärer Spalt verschwindet bis zum Beginn der Prophase, syn, P - M ca. 42o, keine Cytokinese, (Pro-)metaphasische Restitution (Chromosomen nicht zu erkennen), F_1: 1 vielkernige Zelle: 3 große, 4 mittelgroße Kerne, viele mn: Summe ca. 26 - 34c (sehr schwer meßbar),
Bem: Nachbarzellen zeigen unauffälligen Mitoseablauf, hier keine Restitutionskernbildung, 'Kugelstadium' ca. 150 min; 'Mitose' insgesamt 6 h;
Abb: 52

135) 10.13 Mon; H: *
Z: 2k/*n, kontinuierliche - nicht intensive Belicht. KB +++ ca. 9-10 h vor P, kurz vor P plötzlich Stopp, Abkugeln der Zelle, Zelltod; dabei prim. internukleärer Spalt - dann langsames Verschwinden des Spalts, syn (?), P 60,
Abb: *

136) 6.23 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 2c und 3c und 3c,
Abb: 11f, 58g

137) 5.93 Mon; H: *
Z: 2k/4n, IR: Internukleärer Spalt bis zum Beginn der Prophase, syn, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 2c und 3c und 3c,
Abb: 11f, 58g

138) 5.83 Mon; H: *
Z: 2k/4n, syn, SB konfl 2str - 1str Parallel-mitose, M 1str/3pol, (Parallelmitose), F_1: 3 x 1k: 2c und 2c und 4c,
Abb: 8c, 26, 58b

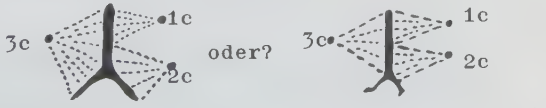
139) 11.77 Mon; H: *
Z: 2k/2(!)n, syn, M 3str/4pol: Pseudotripolare Mitose!, F_1: 2 x 2k: 1c+1c und 1c+1c,
Abb: 12c,
Tab: 45, 46

140) 11.73 Mon; H: *
Z: 2k/2(!)n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2c und 2c,
Abb: 14, Tab. 46

141) 22.8 Mon; H: *
Z: 2k/*n, KB ++, IR: Kein Spalt, Syn, Mit ca.130, P 35, PM+M 67, A 6, T*, A-Cyt ca. 120, SB direkt - 1str bip Mit, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: Zelltod ca. 4h nach Anaphase!
Abb: 14

142) 6.37 Mon; H: *
Z: 2k/6n, syn, M 1(?)str/4pol (Parallelmitose?), F_1: 2 x 2k: 3c+3c und 3c+3c,
Abb: *

143) 10.3 Mon; H: *
Z: 2k/3n, syn, M 3str/3pol: Pseudotripolare Mitose, F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 3c und 1c+2c (vgl. mit F_1 von Nr.145!),
Bem: Es ist möglich, daß die pseudotripolare Mitose nur vorgetäuscht wurde (durch die großen, am Ende der'beiden' unteren Strahlen gelegenen Geschlechtschromosomen?) und in Wirklichkeit eine einstrahlige, dreipolige Parallelmitose war:



(unwahrscheinlich)

Abb: 12b, Tab. 45

144) 7.5 Mon; H: *
Z: 2k/5n, KB*, IR: Internukleärer Spalt bis zum Beginn der Prophase, syn, M 3str/3pol, F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 2c und 4c+4c,
Abb: 11a

145) 10.13 Mon; H: *
Z: 2k/3n, syn, M 3str/3pol, F_1: 1x1k und 1x2k: 2c und 1c+3c (vgl. F_1 von Nr.143: andere Fusionsvariante der Tochterkerne/zellen bedingt durch andere Metaphasenfigur u./o. Lage der Spindelpole?),
Abb: 11e, Tab. 45

146) 10.17 Mon; H: *
Z: 2k/4n, M 4str/4pol, F_1: 1 x 1k und 1 x 3k: 2c und 2c+2c+2c (Beachte Zellfusion von F_1^{a+b+c}),
Abb: 13a, 58i

147) 5.3 Mon; H: *
Z: 2k/4n, IR: Internukleärer Spalt bis zum Beginn der Prophase, syn, Mit ca.80, P*, PM (15), M (20), A*, T*, SB konfl 3str-2str-1str, M 1str/2pol (V-Mitose ?) F_1: 2 x 1k
Abb: 8a, 9, 28, 58c

148) 5.43 Mon; H: *
Z: 2k/4n, Mit ca. 100, P (25), PM (30), M (ca.15), A 7, T*, SB 1str - knick - 2str, M (3?)2str/3pol (V-Mitose ?), F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 4c und 2c+2c,
Abb: 11a (?), 10a (?), 25, 58d

149) 5.53 Mon; H: *
Z: 2k/8n, syn, M 4str/4pol, F_1: 2 x 2k: 4c+4c und 4c+4c,
Abb: *

150) 6.1 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k

151) 6.17 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k

152) 5.53 Mon; 2k/*n, syn, SB HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2x1k
153) 10.27 Mon; 2k/*n, SB HS konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2x1k
Abb: 15 (für Nr.152 und Nr.153)

154) 5.3 Mon;
155) 19.2 Mon;
156) 22.77 Mon;
157) 22.03 Mon;
Nr.154-157: 2k/*n, M 1str/2pol, syn, F_1: 2 x 1k

158) 5.57 Mon;
159) 5.67 Mon;
160) 17.23 Mon;
161) 21.73 Mon;
Nr.158-161: 2k/*n, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k

III.1 f) Tabelle 1 e: Zweikernige Zellen der aneuploiden Kultur

162) 41.67 Mon; H: *
Z: 2k/8n, IR: Internukleärer Spalt bis zum Prophasebeginn, syn, Mit 89, P 17, PM+M 28, A 9, T 35, A-Cyt 42, SB HS konfl 4str - 3str, M 3str/4pol (V-Mitose?), F_1: 1 x 1k und 1 x 3k: 4c und 4c+4c+4c,
Bem: Interessanter prometaphasischer Umbauvorgang: 4str - 3str: zwar wird die Zahl der Strahlen um einen vermindert, jedoch die Zahl der Pole bleibt (wahrscheinlich!) konstant: 4!
Abb: 11d, 30

163) 41.67 Mon; H: *
Z: 2k/7n, syn, Mit 95, P 15, PM 5, M 40, A 5, T 30, A-Cyt 19, SB HS suc 4str, M 4str/6(!)pol, F_1: 1 x 2k und 1 x 3k+mn: 2c+$\underline{4}$c(Fus!) und 2c+3c+3c+mn, Kernfusion in der ursprünglich 3k anderen Schwesterzelle!
Abb: 21

164) 41.67 Mon; H: *
Z: 2k/(6n), asyn, Mit 80, P 15, PM+M 32, A 8, T 25, A-Cyt 55, SB HS konfl 3str, M 3str/3pol, F_1: 1 x 1k+mn und 1 x 2k: 4c+mn und 3c+4^+c,

Abb: 19

165) 41.67 Mon; H: *

Z: 2k/4n, syn, Mit 97, P 33, Pm 23, M 10, A 6, T 25, A-Cyt 50, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c,

Abb: 8a, 14, 58c

166) 39.07 Mon; H: *

Z: 2k/4n, KB +++ : ab 8h vor Prophasebeginn sehr intensive Kernbewegungen, im Wechsel 3 x aufeinander zu - voneinander weg, asyn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4c und 4c+mn,

Abb: 14, 58c

167) 41.67 Mon; H: *

Z: 2k/6n, syn, Mit ca. 55 (!), P 15, PM+M 7 (!), A 6, T 27, SB direkt 3str, M 3str/3pol, F_1: 1 x 1k und 1 x 2k+mn: 4c und 3c+5c+mn,

Bem: wie ist diese zahlenmäßige Verteilung durch räumliche Anordnung der Chromosomen in der Metaphasenfigur bedingt? Warum keine Verteilung wie: 4c/4c/4c ?

Abb: 17

168) 41.2 Mon; H: *

Z: 2k/4n ?? (4n sehr fraglich), KB +++, SB konfl HS - 1str/3pol, M 1str/3pol (Parallelmitose), F_1: 1 x 1k+mn und 1 x 2k: 4c+mn und 2c+2c

Bem: rel. DNS-Gehalt-Werte wurden für Tab.40b NICHT herangezogen!

Abb: 58b

169) 41.2 Mon; H: *

Z: 2k/4n, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 2 x 4c,

Bem: Erst 9 h nach Anaphase fixiert (schon S-Phase?)

Abb: 8a

170) 40.3 Mon; H: *

Z: 2k/4n, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 3^+c und 4^+

171) 47.33 Mon; H: *

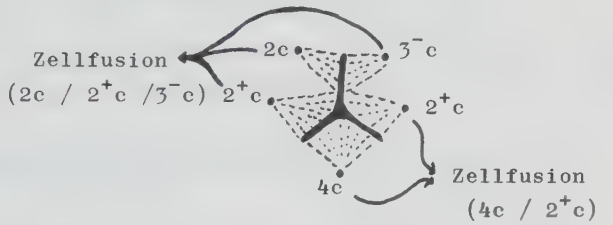
Z: 2k/5n, syn, SB direkt, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k:

5c und 5c,

Abb: 14

172) 45.5 Mon; H: *

Z: 2k/7n, M 3str/5pol, F_1: 1 x 2k und 1 x 3k: $2^+c+4c+mn$ und $2c+ 2^+c+ 3^-c$,



HALBSCHEMATISCH !
Lage der Spindelpole nicht eindeutig feststellbar. Fusion schon in der späten Telophase / frühen Interphase.

Abb: *

173) 45.2 Mon; H: *

Z: 2k/3n, syn, M 3str/2pol: Pseudotripolare Mitose, F_1: 2 x 1k: 3c und 3c,

Abb: 12a

174) 45.83 Mon; H: *

Z: 2k/4n, M (2?)3str/5pol (V-Mitose?), F_1: 5 x 1k: 1^-c und 1^+c und 2c und 2c und 2c,

Bem: Es entstehen zwei 1k-Zellen, die beide ungefähr haploid sind.

Abb: 10g / vgl. 11c, Tab. 45

175) 41.9 Mon; H: *

Z: 2k/4n, M 3str/3pol (oder V-Mitose?), F_1: 3 x 1k: 2c und 2c und 4c,

Abb: 11a, 58d

176) 41.9 Mon; H: *

Z: 2k/4n, IR: Internukleärer Spalt (noch während der Prophase!), syn, M 3str/3pol, (V-Mitose?), F_1: 3 x 1k: 2c und 2c und 4c,

Abb: 11a, 58d

177) 42.9 Mon; H: *

Z: 2k/5n, IR: Spalt noch in Prophase vorhanden,

syn, M 3str/3pol, F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 4^-c und 2c+4c+mn,

Bem: Wie ist diese Aufteilung geometrisch vorstellbar? (d.h. wie ist Anordnung der Chromosomensätze in der Metaphasenfigur?)

Abb: 11g

178) 42.3 Mon; H: *

Z: 2k/6n, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k: 3c und 4c und 5c,

Bem: Chromosemenanordnung in der Metaphasenplatte?

Abb: 11k

179) 42.57 Mon; H: *

Z: 2k/11n, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 10c und 12c+mn,

Abb: *

180) 42.63 Mon; H: *

Z: 2k/3n, M 4str/4pol, F_1: 2 x 2k: 1c+1^+c und 1^+c+2c,
Tochterzellen mit haploiden Kernen sind lebensfähig

Abb: *, Tab. 45

181) 47.23 Mon; H: *

Z: 2k/7n, syn, M 4str/4pol, F_1: 1 x 1k und 1 x 3k: 4^-c und 3c+3c+4c,

Abb: 13b

182) 46.2 Mon; H: *

Z: 2k/3n, M 3str/3pol (V-Mitose?), F_1: 1 x 1k u. 1 x 2k: 3c und 1c+2c, Tochterzelle mit 1c-Kern ist lebensfähig,

Abb: 11e, Tab. 45

183) 46.2 Mon; H: *

Z: 2k/4n, M 3str/3pol, F_1: 1 x 1k u. 1 x 2k: 3c und 2c+3c,

Abb: 11f, 58g

184) 46.2 Mon; H: *

Z: 2k/17n (aber rel. kleine Zellkerne, d.h. nicht wesentlich größer als 4n-Zellkerne), IR: Inter-

nukleärer Spalt noch während der Prophase!
syn, M 3str/6pol, F_1: späte Telophase (häufig Zeitpunkt der vollst. Cytokinese) wurde nicht abgewartet, deshalb kann Zahl der Tochterzellen nicht bestimmt werden.
1^-c, 3^+c, 3^+c, 8c, 9c, 9c, mn,

Bem: Kernfusion möglich, jedoch nicht beobachtet.

Abb: *; Tab. 45

185) 46.63 Mon; H: *

Z: 2k/6n, M 1str/3pol, F_1: 3 x 1k: 3^+c und 4c und 4c+mn,

Abb: *

186) 47.3 Mon; H: *

Z: 2k/5n, syn, M 3str/4pol, Zahl der Tochterzellen: siehe Nr.184, 1^+c, 2^+c, 2^+c, 5^-c,

Tab: 45

187) 47.33 Mon; H: *

Z: 2k/6n, syn, M 3str/4pol, (V-Mitose?), F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 2c und 4c und 1^-c+ 5^+c,

Tab: 45

188) 40.03 Mon; H: *

Z: Sehr große Zellkerne: 2k/(größer als 18n), M 4str/5pol, F_1: 1 x 1k+4mn und 2 x 2k (Fus von Schwesterzellen ca. 1.25 h nach Anaphase): Summe größer als 36c; es existiert in der frühen F_1-Interphase nur eine einzige große (durch Fus entstandene) Tochterzelle!

Abb: 50

189) 41.2 Mon, H: *

Z: 'Riesenzelle': 2k/(größer als 20n), 'Abortive Mitose': Mit (195) dann Stopp, Chromosomen liegen ungeordnet im Cytoplasma verstreut, Gruppenbildung, keine Hohlspindel!
M KEINE!, F_1: 1 x 3k+3mn: größer als 40c,

Bem: Beobachtet bis 2o h nach Anaphase: lebensfähig (in G_o-Phase?),

Abb: 52

190) 39.1 Mon; H: *
Z: 'Riesenzelle': 2k/(größer als 15n), 'Abortive Mitose' (Restitutionskernbildung): M 140, dann Stopp, wie Nr.189! F_1: 1 x 5k + zahlreiche mn: größer als 30c,
Bem: Beobachtet bis 36 h nach Anaphase: lebensfähig (in G_o-Phase?),
Abb: 52

191) 41.23 Mon; H: *
Z: 'Riesenzelle': 2k/(hoch-polyploid?), 'Abortive Mitose' (Restitutionskernbildung): M ca. 180, dann Stopp (nichts zu erkennen!), F_1: 1 x 2k+2 kleinere Kerne + mn: hochpolyploid (genauere Messung unmöglich),
Bem: Beobachtet bis 24 h nach Mitose
Abb: 52

192) 39.23 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 3str/4pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: Zelltod 4.0, 8.0 und 10.0 h nach Anaphase,
Abb: *

193) 40.03 Mon; H: *
Z: 2k/*n, KB +++, IR: Schlängelnde Bewegungen der Kernmembran (nur aus Photoserie bestimmbar, da sehr langsam!), syn, M ca. 90, P 22, PM+M 25, A 7, T 35, SB konfl 1str, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k (Nr.5),
Abb: *

194) 40.37 Mon; H: *
Z: 2k/*n, KB +++: Kerne bewegen und überlappen sich, IR: Internukleärer Spalt -/+/-/+ innerhalb der letzten 3.5 Interphasestunden, syn, nach 300 min P-Beobachtung Abbruch, da sich bei bestehendem Internukleären Spalt in den Prophasekernen keine weitere Entwicklung abzeichnet. Belichtung regulär.
Bem: Stopp in der (internukleärer-Spalt)-Prophase

195) 43.87 Mon; H: *
Z: 2k/11n (Kerne nicht besonders groß!), Mit ca. 110, P*, PM+M 70, A 4, T*, SB HS konfl 1str/4pol Parallelmitose, M 1str/4pol Parallelmitose, F_1: 1 x 2k und 2 x 1k (Fus nach 2.16 h!): 8c und $4c+5^{+}c+5^{-}c$, (1k- u. 2k-Zelle sind fusioniert),
Abb: 48

196) 43.03 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 1str/4pol (Parallelmitose), Fus?, F_1: 2 x 2k (Nr. 197+198)
Abb: 47

197) 43.03 Mon; H: Nr.196 2k/*n, M 1str/4pol
Z: SZ Nr.198, ZZ 8.25 h, 2k/*n, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 7c (?) / Zelltod 8,75 h nach Anaphase,
Abb: 47

198) 43.03 Mon; H: Nr.196 2k/*n (hoch-polyploid), M 1str/4pol
Z: SZ Nr.197, ZZ 14.90 h, 2k/(10n), asyn, Mit ca. 185, P ca. 40, PM+M 48, A 9, T*, SB HS konfl 4str - 2str - 1str (Retraktion von 2 gegenüberliegenden Strahlen), M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k+mnn (Kernfusion bei Parallelmitose?): 11c+9c+mn+mn+mn (Fus 2.5 h nach Anaphase), nicht in Tab.40!
Abb: 31, 32, 47

199) 42.8 Mon; H: *
Z: 2k/(4n), syn, Mit ca.100, P*, PM*, M 25, A*, T*, SB direkt Parallelmitose, M 1str/3pol (Parallelmitose), F_1: 3 x 1k: Summe ca. 7-8n, nicht in Tab. 40! Zwei der drei Tochterzellen fusionieren nach 1.5 h. F_1: Nr.16+200
Abb: 45, 46

200) 42.8 Mon; H: Nr.199 s.o.
Z: SZ Nr.16, 2k/4n, ZZ 16.83 h, KB +++, Mit ca.90, P 30, PM+M 32, A 5, T*, syn, M 3str/4pol,

F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 2c u. 3^-c u. 1c+3c,

Abb: 45, Tab. 45

201) 43.03 Mon; H: *

Z: 2k/*n, M 1str/3pol, F_1: 3 x 1k+3mn, Tochterzellfusion nach 1.58 h: gemeinsames Cytoplasma für alle Tochterkerne; Keine Mitose innerhalb der nächsten 28.25 h!

Abb: 53

202) 43.03 Mon; H: *

Z: 2k/*n, IR: Internukleärer Spalt, M 1str/4pol Parallelmitose, F_1: 2 x 2k,

Bem: Prophasebeginn dauert sehr lange! IR-Spalt! syn?

Abb: *

203) 43.03 Mon; H: 2k/(poly), M 1str/4pol Parallelmitose

Z: 'Riesenzelle' 2k/(21n) sehr große Zellkerne, ZZ 12.92 h, IR: Spalt!, asyn, Mit ca.105, P 40, PM+M 37, A 8, T*, SB direkt 3str, M 3str/8pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 2k und 1 x 4k+3mn: Summe ca. 42n, F_1: Nr.9/10/204

Abb: 17, 40

204) 43.03 Mon; H: Nr.203 s.o.

Z: SZ Nr.9/10, 2k/12n, ZZ 14.41 h, M+PM 20, SB direkt 4str, M 4str/5pol, F_1: 1 x 1k und 2 x 2k: 3^+c und 4c+4^+c und 5c+7c,

Abb: 40

205) 43.03 Mon; H: *

Z: 2k/*n, syn, Mit 87, PM+M 38, M 1str/5pol, Parallelmitose, F_1: 1 x 2k und 1 x 3k: F_1: Nr.51.....F_2: Nr.11/12/206

Abb: 49

206) 43.03 Mon; H: Nr.51: 3k/poly, M 3str/5pol

Z: SZ Nr.11/12, 2k/14n, ZZ 21.05 h, Mit 93, M 4str/5pol, F_1: 2 x 1k und 1 x 3k: 6c und 6c+mn und 3^+c+3^+c+8c+mn

Abb: 49

207) 42.87 Mon; H: *
Z: 2k/2n, M 1str/4pol Parallelmitose, F_1: 2 x 2k: 1c+1c und 1c+1c (vgl. Nr.208!), F_1: Nr.208/209,
Bem: Zwei 2k/2n-Zellen mit haploiden Zellkernen!
Abb: 8g, 44, Tab. 45, 46

208) 42.87 Mon; H: Nr.207: 2k/2n, M 1str/4pol, haploide Mutterkerne!
Z: SZ Nr.209, 2k/2n(!), ZZ 24.83 h, M 3(?)str/4pol, (V-Mitose?), F_1: 2 x 1k und 1 x 2k: 1c und 1c und 1c+1c,
Bem: Mitose haploider Zellkerne wie Nr.207!
Abb: 10f, 44, Tab. 45/46

209) 42.87 Mon; H: Nr.207: 2k/2n, M 1str/4pol, haploide Mutterkerne! (die Mutterkerne wurden als haploid festgelegt, da sie beide gleich groß waren und die Gesamtploidie -rückgerechnet- 2n ergab; betr. Nr.207/208/209)
Z: SZ Nr.208, 2k/2n(!), ZZ 6.83 h (vgl. SZ!), M 1str/3pol Parallelmitose, F_1: 1 x 1k und 1 x 2k: 2c und 1c+1c,
Bem: Mitose haploider Zellkerne (in 2n-Zelle),
Abb: 8f, 44, Tab. 45/46

210) 41.2 Mon; H: *
Z: 2k/(3n?), M 1str/3pol Parallelmitose, F_1: 1 x 2k und 1 x 1k+mn: 1c+1c (?) und 4c+mn(?), errechnet/ nicht in Tab.40, 1c+1c-Zelle jedoch wahrscheinlich, F_1: Nr. 6/211
Abb: 41

211) 41.2 Mon; H: Nr.21o: s.o.
Z: SZ Nr.6, 2k/*n, ZZ 18.58 h, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: (3c und 3c'?'Schon in S-Phase zum Zeitpunkt der Fixierung? Auch möglich, daß F_1-Kerne beide diploid sind!),nicht in Tab.40,
Abb: 41

212) 39.3 Mon; H: *
Z: 2k/*n, IR: Spalt?, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4n und 4n (? - nicht in Tab.40), F_1: Nr.1/2 Abb: 37

213) 40.0 Mon; H: *
Z: 2k/*n, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: 4n und 4n (? - nicht in Tab.40), F_1: Nr.3/4
Abb: 37

214) 42.07 Mon; H: *
Z: 2k/*n, syn, M 1str/2pol, F_1: 2 x 1k: *, F_1: Nr.7/8,
Abb: 37

215) 43.03 Mon; H: *
Z: 2k/(5n), M 1str/4pol, Parallelmitose, F_1: 1 x 1k und 1 x 3k: 5c und (Summe:) 5c, nicht in Tab.40, F_1: Nr.13/49....F_2: Nr.14
Abb: 51

216) 46.3 Mon; H: *
Z: 2k/*n, M 3str/3pol, F_1: 3 x 1k,
Abb: *

III.2. Definition der Mitosestadien

Für die Einteilung der Mitosephasen lebendbeobachteter Zellen mußten die von OFTEBRO und WOLF (1967) und OFTEBRO (1968) bei HeLa-Zellen benutzten Klassifizierungskriterien unter Zuhilfenahme der von RIEGER, MICHAELIS und GREEN (1976) gegebenen Definitionen modifiziert werden, da die Lungenfibroblasten der Erdmaus während der Mitose regelmäßig Veränderungen der Zellform und des Zellinnern aufweisen (mitotische Kugelform der Zelle, Maskierung der Chromosomen durch stark lichtbrechende Zellorganellenund Vakuolen, dreidimensionale Anordnung der Chromosomen), welche die in vielen pflanzlichen und tierischen Zellen mögliche genaue Beobachtung aller Mitoseereignisse, und damit die exakte Abgrenzung der einzelnen Mitosephasen gegeneinander, erschweren und teilweise sogar unmöglich machen.

Prophase: Der Beginn der Prophase erfolgt allmählich und kann aufgrund einer sehr langsam fortschreitenden Granulierung des in der späten Interphase im Phasenkontrast noch unstrukturierten Karyoplasmas nicht exakt bestimmt werden. Als eindeutiger Prophasebeginn wurde eine irreversible, gut erkennbare Veränderung des Karyoplasmas definiert, die dem Zellkern eine 'Pfeffer-und-Salz' Musterung verleiht. Die Prophase endet mit der Auflösung der Kernmembran(en).

Prometaphase: Die Prometaphase umfaßt den gesamten Zeitraum zwischen dem Ende der Prophase und der Bildung der definitiven Metaphasenfigur. Von einigen Autoren wird die Prometaphase allgemein als das Mitoseintervall definiert, das mit der Auflösung der Kernmembran beginnt und erst kurz vor der Anaphase endet (BAJER und MOLE-BAJER, 1956, 1969; DIETZ, 1956; ROOS, 1973a). Die Metaphase selbst gilt in diesem Zusammenhang nur als sehr kurzes Übergangsstadium, in dem aufgrund eines durch die Spindeldynamik bedingten Kräfteäquilibriums (ÖSTERGREN, 1945, 1948, 1950, 1951; DIETZ, 1956, 1958, 1969) wesentliche Chromosomenbewegungen nicht mehr erfolgen können; das Hin- und Herpendeln der aus der Metaphasenplatte herausragenden Chromatidenenden

ist jedoch noch möglich (BELAR, 1930; MICHEL, 1943; HUGHES und SWANN, 1948; BAJER und MOLE-BAJER, 1965; MOOREHEAD und HSU, 1956). Da in Mitosen polyploider Lungenfibroblasten mit zwei und mehr Zellkernen komplexe Spindelbildungsvorgänge nicht selten sind, ist hier die zeitliche Abgrenzung der Prometaphase gegen die Metaphase ungenau.

Metaphase: Als Beginn der Metaphase wurde das Erscheinen der endgültigen Metaphasenfigur festgelegt; geringfügige Chromosomenbewegungen und Veränderungen der Figursymmetrie sind in diesem Stadium in der Lebendbeobachtung scheinbar noch möglich, wenngleich es sich hierbei mit großer Wahrscheinlichkeit um durch das Hin- und Herpendeln der Chromatiden vorgetäuschte Bewegungen des mitotischen Apparates handelt.

Anaphase: Die Anaphase beginnt im Moment der ersten erkennbaren Chromatidenbewegungen in Richtung Spindelpole. Da dies ein sehr gut erkennbarer Vorgang ist, wurde der Beginn der Anaphase während der Langzeitbeobachtungen als zeitlicher Fixpunkt für die Zellzyklusbestimmung gewählt.

Telophase: Eine genaue Abgrenzung der Telophase gegen die Anaphase ist nicht möglich. Als Beginn der Telophase wurde der Zeitpunkt gewählt, zu dem sich die Schwesterchromatidengruppen eindeutig, d.h. im Phasenkontrast gut erkennbar, voneinander entfernt hatten, und die einzelnen Chromosomen in den Tochterkernen nicht mehr unterschieden werden konnten. Im Phasenkontrast erscheinen die Schwesterchromatidengruppen jetzt als optisch dichte Schollen. Die Telophase endet zu dem Zeitpunkt, in dem Nukleoli und Kernmembranen sichtbar werden und den Übergang vom Stadium der Telophasenteile zum Interphasezellkern anzeigen.
Einschnürungen des Zelleibes und vollständige Cytokinese wurden für die Abgrenzung der Telophase gegen die folgende Interphase nicht herangezogen.

III.3. Definition der multipolaren Mitose

Als multipolare Mitosen wurden ursprünglich Metaphasefiguren mit mehr als zwei Halbspindeln (STRASBURGER, 1880) bzw. mit mehreren deutlich erkennbaren Polen bezeichnet (BOVERI, 1888). Neben der erhöhten Anzahl von Halbspindeln bzw. Polen wurde an diesen Mitosen eine markante Veränderung der Metaphasenplatte erkannt: Die Chromosomen erschienen nicht mehr wie bei den bisher beschriebenen bipolaren Mitosen nur in einer planen Metaphasenebene angeordnet; in multipolaren Mitosen waren die Chromosomen zu Y- oder X-förmigen Metaphasenfiguren gruppiert (BOVERI, 1888). Durch unterschiedliche, Centriolen und Spindeln nicht mehr darstellende Färbeverfahren und durch weniger geeignetes Untersuchungsmaterial bedingt, wurde der Begriff "multipolare Mitose" in der Folgezeit immer häufiger für Mitosen verwendet, in denen zwar eine stern- oder kreuzförmige Metaphasenfigur, nicht aber die Spindelpole erkennbar waren. Diese Vereinfachung der Bezeichnung "multipolare Mitose" schien gerechtfertigt, da in allen genauer untersuchten multipolaren Mitosen stets eine Y- oder X-förmige Metaphasenfigur und gleichzeitig eine erhöhte Anzahl von Spindelpolen nachgewiesen werden konnte.

PERA (1974, 1975) konnte durch gleichzeitige Färbung von Centriolen, Spindeln und heterochromatischen Chromosomen nachweisen, daß diese direkte Korrelation zwischen Konfiguration der Metaphasenfigur und Anzahl der Spindelpole keineswegs immer bestehen muß. Er fand u.a. vierstrahlige Metaphasen mit nur zwei Polen; andere Metaphasen ließen trotz einer scheinbar bipolaren Chromosomenanordnung bis zu acht Spindelpole erkennen. Die von PERA (1975) als pseudo-quadripolar bezeichneten vierstrahligen aber nur zweipoligen Mitosen unterstreichen die Notwendigkeit einer präzisen Definition des Begriffs "multipolare Mitose".

Aus diesem Grund wird in dieser Arbeit zwischen "mehrstrahligen" und "mehrpoligen" Mitosen unterschieden.

Als mehrstrahlig wird eine Mitose bezeichnet, die abweichend

vom gewohnten Bild der balkenförmigen Metaphasenplatte bipolarer Mitosen eine Metaphasenkonfiguration mit drei, vier und mehr Teilplatten (= "Strahlen", die von einem gemeinsamen Zentrum ausgehen) erkennen läßt, wodurch die Formen eines Y, X oder eines Sterns entstehen. Die gewöhnliche bipolare Mitose wird in dieser Nomenklatur als einstrahlig bezeichnet; andere Mitosen mit V-förmig abgeknickter Metaphasenplatte heißen zweistrahlig (auch "V-Mitose"; vgl. Kap. III.12).

Mitosen mit mehr als zwei Spindelpolen werden mehrpolig bzw. multipolar genannt. Die exakte Bestimmung der Polzahl war bei den in dieser Arbeit untersuchten Zellen jedoch schwierig: Im Phasenkontrastbild der Lebendbeobachtung können die Chromosomen und teilweise auch das Archiplasma (nach BOVERI, 1888 und 1890, eine das Vorhandensein von Spindelfasern anzeigende Cytoplasmaaufhellung) deutlich erkannt werden; die Centriolen oder andere mögliche Poläquivalente waren jedoch meist nicht sichtbar.
KOSTANECKI hatte schon 1892 festgestellt: "Es kommt zur Bildung so vieler Tochtersterne, wie Pole da sind." Die Anzahl unterscheidbarer Chromosomengruppen, die in der Telophase einer multipolaren Mitose erkennbar sind (= "Telophasenteile" nach OFTEBRO, 1965, 1968), stimmt folglich mit der Zahl der Spindelpole überein.
Schon an dieser Stelle (siehe auch Kap. III.10.) sei darauf hingewiesen, daß der Begriff "Spindelpol" in dieser Arbeit nicht als Synonym für Diplosom oder Centriolenpaar Verwendung findet, da später noch die Existenz von Polen mit mehreren Centriolenpaaren bzw. von acentriolären Polen diskutiert werden soll.

Die präzise Bestimmung der Poligkeit einer Mitose wurde in der Lebendbeobachtung weiterhin dadurch kompliziert, daß es in einigen Fällen am Ende der Telophase zur Fusion von Telophasenteilen kam (= Kernfusion). In diesem Fall stimmen also Zahl der Tochterkerne und Zahl der Spindelpole nicht (mehr) überein. Das Phänomen der Kernfusion wird im Kapitel III.21.näher beschrieben.

Tabelle 2: Gegenüberstellung von Spindelpolzahl und Form der Metaphasenplatte von 186 in der Lebendbeobachtung verfolgten Mitosen ein- und mehrkerniger Fibroblasten

Spindelpole	Form der Metaphasenplatte		
2 Pole	87.0 % (107)	1.9 % (1)	- -
3 Pole	7.3 % (9)	49.0 % (26)	10.0 % (1)
4 Pole	4.9 % (6)	35.8 % (19)	80.0 % (8)
5 Pole	0.8 % (1)	9.5 % (5)	10.0 % (1)
6 Pole	- -	3.8 % (2)	- -
	100.0 % (n = 123)	100.0 % (n = 53)	100.0 % (n = 10)

Die Bedeutung einer genauen Unterscheidung zwischen mehrpoligen und mehrstrahligen Mitosen veranschaulicht Tabelle 2, in der bi- und multipolare Mitosen von in der Lebendbeobachtung verfolgten Zellen nach Form der Metaphasenplatte und Zahl der Spindelpole aufgelistet sind; die Methode zur Bestimmung der Spindelpolzahl mehrpoliger Mitosen wird im Kapitel III.2Q näher erläutert.
13.0 % der scheinbar bipolaren, einstrahligen Mitosen (n = 123) erwiesen sich als multipolar; sie hatten drei (7.3 %), vier (4.9 %) und fünf Pole (0.8 %). Von den zwei- und dreistrahligen Mitosen (n = 53) waren 98.1 % multipolar; hier fanden sich drei- (49.0 %), vier- (35.8 %), fünf- (9.4 %) und sechspolige Mitosen (3.8 %). Die selten beobachteten vierstrahligen Mitosen (n = 10) bildeten in 80.0 % vierpolige Mitosen; je 10.0 % hatten drei bzw. vier Spindelpole.
Die in Tabelle 2 stark umrandeten Felder zeigen den Prozentsatz der Mitosen an, in denen Anzahl der Spindelpole und Anzahl der Strahlen korrelieren (jedoch: einstrahlige Figur → zwei Pole!). Von den zwei- und dreistrahligen Mitosen (in der Lebendbeobachtung waren diese beiden Konfigurationen nicht immer eindeutig auseinanderzuhalten; sie wurden deshalb hier als eine gemeinsame Gruppe aufgeführt) besaßen 49.1 % mehr Pole als ihre Konfiguration hatte erwarten lassen. In 49.0 % stimmten Zahl der Pole und Strahlen überein, und nur in 1.9 % lag eine pseudo-tripolare zweipolige Mitose vor.
87.0 % der einstrahligen und 80.0 % der vierstrahligen Mitosen waren zwei- bzw. vierpolig; in 13.0 % der einstrahligen und 10.0 % der vierstrahligen Mitosen übertraf die Zahl der Pole die Zahl der Strahlen. Eine (10 %) pseudo-quadripolare dreipolige Mitose wurde beobachtet.

Viele Autoren (PERA und SCHWARZACHER, 1969; HENEEN, 1970, 1971; HENEEN et al., 1970; MARTIN und SPRAGUE, 1970; PERA und RAINER, 1973) weisen darauf hin, daß in ihren Untersuchungen die sogenannten tripolaren (d.h. in der oben erläuterten Nomenklatur: die dreistrahligen) Mitosen weit häufiger beobachtet

werden konnten als die sogenannten quadripolaren, also vierstrahligen Mitosen. PERA und RAINER (1973) fanden hier ein Verhältnis von 10 : 1.
Die Lebendbeobachtung von 71 drei- und vierpoligen Mitosen der Kulturen Nr.65 und Nr.104 ergab, daß 36 dreipolig und 35 vierpolig waren; das Verhältnis "dreipolig : vierpolig" betrug somit ungefähr 1 : 1.
Von insgesamt 63 drei- und vierstrahligen Mitosen waren jedoch 53 dreistrahlig und 10 vierstrahlig; hier war das Verhältnis "dreistrahlig : vierstrahlig" somit 5.3 : 1.
Diese Zahlen zeigen, daß eine Differenzierung zwischen Polen und Strahlen bei der Nomenklatur wesentlich ist. Sie lassen es weiterhin möglich erscheinen, daß bisher mit "mehrpoligen" Mitosen sehr häufig eigentlich "mehrstrahlige" Mitosen gemeint waren.
In einigen Fällen (vgl. Kap. III.13.) konnte beobachtet werden, daß die Konfiguration der Mitosefigur am Ende der Metaphase eine ganz andere war als während der Prometaphase und der frühen Metaphase: Aus vielstrahligen Mitosefiguren entwickelten sich einstrahlige Metaphasen oder solche mit weniger Strahlen als ursprünglich vorhanden waren. Umgekehrt war auch die Entstehung mehrstrahliger Metaphasen aus einstrahligen Mitosen möglich. Diese auch von anderen Autoren (OFTEBRO und WOLF, 1967; OFTEBRO, 1968; PERA, 1970; PERA und RAINER, 1973) beschriebenen mitotischen Umbauvorgänge deuten daraufhin, daß in fixierten Präparaten, die ein statisches und kein dynamisches Mitosebild wiedergeben, die Bezeichnung "multipolare Mitose" bzw. "mehrstrahlige Mitose" nur mit Einschränkung verwendet werden darf, solange sich die Zelle noch nicht in der Anaphase befindet, in der eine eindeutige Aussage jetzt wieder möglich ist.

III.4. Mehrkernige Zellen

III.4 a) Häufigkeit

In den meisten Deckglaspräparaten und in den Beobachtungskammern fanden sich bei beiden Kulturen im Durchschnitt 7 % zweikernige Zellen (zwischen 5.5 % und 8.4 %). Auffällig wenig zweikernige Zellen waren in zwei besonders dicht bewachsenen Kammern zu beobachten (0.7 %), während in vier dünn besiedelten Kammern ca. 15 % zweikernige Zellen auftraten.
Drei- und mehrkernige Zellen wurden in allen Präparaten sehr selten beobachtet; mit höherem Kulturalter wurde jedoch in beiden Zellinien ein wachsender Prozentsatz vielkerniger Zellen gefunden.

III.4 b) Entstehung in vitro

Von den in der Literatur beschriebenen Mechanismen der Entstehung zweikerniger Zellen (Schwester- und Nicht-Schwesterzellfusionen, ausbleibende Cytoplasmateilung nach bi- und multipolaren Mitosen, amitotische Kernteilung ohne folgende Cytokinese) konnten in unseren Lebendbeobachtungen alle bis auf die Bildung zweikerniger Zellen durch Amitose nachgewiesen werden.

b1) Ausbleibende Cytoplasmateilung nach bipolaren Mitosen

In den allermeisten von mehreren hundert beobachteten bipolaren diploiden Mitosen trat nach der Kernteilung eine vollständige Cytoplasmateilung ein, die zur Bildung von zwei getrennten diploiden Tochterzellen führte. In mehreren Fällen wurde jedoch beobachtet, wie in dicht bewachsenen Beobachtungskammern aus der bipolaren Mitose einer einkernigen Zelle zwei Tochterzellkerne hervorgingen, ohne daß in der späten Telophase eine Teilung des Cytoplasmas erfolgte. Der cytophotometrisch bestimmte relative DNS-Gehalt jedes Tochterkerns betrug 2c; somit waren die durch ausbleibende Cytokinese entstandenen

zweikernigen Zellen tetraploid (Zellploidie = Summe der Kernploidien).

b2) Ausbleibende Cytoplasmateilung nach multipolaren Mitosen

In beiden Kulturen konnten 107 mehrpolige Mitosen ein- oder mehrkerniger Zellen in der Zeit zwischen Anaphase und früher Interphase verfolgt werden. In 58 (54.2 %) dieser Mitosen entstanden zweikernige, dreikernige, selten auch vielkernige Tochterzellen. Wie Tabelle 3 zeigt, lag der DNS-Gehalt von zweikernigen Tochterzellen am häufigsten im tetraploiden Bereich 4c (30.2 %) gefolgt von diploiden (22.6 %), hexaploiden (13.2 %), triploiden (11.3 %) und octoploiden (9.4 %) Werten. In den zehn dreikernigen Tochterzellen ergab sich keine Bevorzugung einer bestimmten Ploidieklasse.

Tabelle 3: Relativer Gesamt-DNS-Gehalt von mehrkernigen Tochterzellen multipolarer Mitosen

rel. DNS-Gehalt	zweikernige Zellen		dreikernige Zellen
	n	%	n
2 c	12	22.6	-
3 c	6	11.3	-
4 c	16	30.2	2
5 c	2	3.8	-
6 c	7	13.2	1
7 c	2	3.8	1
8 c	5	9.4	2
9 c	1	1.9	-
10 c	1	1.9	1
12 c	1	1.9	1
14 c	-	-	2
Gesamtzahl der beobachteten mehrkernigen Tochterzellen	53		10

b3) Schwesterzellfusionen

Wie Langzeitbeobachtungen zeigten, ist ein späteres Zusammenfließen von in der Rekonstruktionsphase und frühen G_1-Phase noch scheinbar getrennten Tochterzellen nicht selten. Eine Fusion sämtlicher aus einer multipolaren Mitose hervorgegangenen (ursprünglich getrennten) Tochterzellen wurde in vier Fällen beobachtet. OFTEBRO (1965, 1968) und OFTEBRO und WOLF (1967) beschrieben vergleichbare Pseudofusionen, die sie auf zwischen den beiden Schwesterzellen verbliebene feine Cytoplasmabrücken zurückführten.

Angaben über die Häufigkeit von Schwesterzellfusionen sind unsicher, da die Zellen üblicherweise kurz nach der in der Lebendbeobachtung verfolgten Zellteilung fixiert wurden, und somit eine möglicherweise später auftretende Schwesterzellfusion nicht erkennbar war. Aufgrund dieser Überlegungen ist anzunehmen, daß der Prozentsatz mehrkerniger Zellen nach bi- und multipolaren Mitosen in Wirklichkeit höher ist als sich aus den Befunden in der frühen Interphase ergibt.

Bei manchen beobachteten Schwesterzellfusionen könnte es sich auch um Pseudofusionen gehandelt haben: Im Phasenkontrast nicht oder nur schwach erkennbare Cytoplasmabrücken gestatten ein Auseinanderrücken und Wiederzusammenfließen verschiedener Zellareale, ohne daß die Kontinuität des gemeinsamen Cytoplasmas dabei aufgehoben würde. Diese Vorgänge täuschen somit eine Zellteilung resp. eine Zellfusion vor.

Schwesterzellen, die unmittelbar zu Beginn der Interphase fusionierten, ließen sich später nicht mehr von vielkernigen Zellen mit anderer Entstehungsweise unterscheiden. Dagegen fielen diejenigen Zellen, die erst mehrere Stunden nach dem Ende der Mitose durch Fusion von Schwesterzellen entstanden, in einigen Fällen durch außergewöhnlich lange Interphasezeiten und einen hohen Ploidiegrad auf (vgl. Kapitel "Langzeitbeobachtungen").

b4) Nicht-Schwesterzellfusionen

In zwei Fällen wurde die Fusion zweier ursprünglich weit voneinander entfernter Zellen beobachtet. Die mehrkernigen Zellen bewegten sich langsam aufeinander zu und fusionierten innerhalb von zwei Stunden zu je einer zweikernigen Zelle.

b5) Pseudo-amitotische Kerneinschnürungen

Der mikroskopische Befund an vielen Zellkernen ließ während der Lebendbeobachtung den Verdacht auf eine Kerneinschnürung und -durchtrennung im Sinne einer amitotischen Kernteilung aufkommen. Nach BUCHER (1971) können in Hühnerfibroblasten Kerneinschnürungen zu einer direkten Kernteilung führen. In unserem Material wurde in mehr als 250 einkernigen Zellen, deren Kerne während der Interphase tiefe Buchten und Einfaltungen zeigten, nicht eine einzige amitotische Kernteilung beobachtet; viele dieser Zellen traten schon kurze Zeit, nachdem die Kerneinschnürung verstrichen war, in die Mitose ein. Ein vergleichbares Verhalten "amitoseverdächtiger Kerne" (BUCHER, 1958, 1959) wurde auch von anderen Autoren in verschiedenen Geweben beschrieben (MACKLIN, 1916; LEWIS, 1947; BUCCIANTE, 1929).
Die Entstehung pseudoamitotischer Kerne konnte in der Lebendbeobachtung verfolgt werden: Sie gingen häufig aus multipolaren Mitosen hervor (Abb. 1). Wahrscheinlich handelt es sich bei den pseudoamitotischen Tochterkernen multipolarer Mitosen in vielen Fällen um zwei unvollständig miteinander fusionierte Telophasenteile, die von einer gemeinsamen Kernmembran umgeben werden (vgl. BUCHER, 1971).
Abbildung 2 zeigt die Entstehung einer pseudoamitotischen Zelle (nach Photos aus der Lebendbeobachtung schematisierend gezeichnet): Eine in der Metaphase dreischenklige, dreipolige Mitose bildet drei zunächst getrennte Telophasenteile, von denen zwei eng benachbart liegen und schließlich von einer gemeinsamen Kernmembran umgeben werden. Der im folgenden leicht gelappte Zellkern zeigt nach Fixierung und Feulgenfärbung einen relativen DNS-Gehalt von 8c; der Kern der Schwesterzelle weist

4c auf.
Kernausstülpungen konnten in vielen Fällen auch auf eine verlangsamte anaphasische Chromatidenbewegung zurückgeführt werden. Wegen der verspäteten Integration der heterochromatischen Geschlechtschromosomen in die Tochterkerne sind in frühen Interphasestadien nicht selten Kernvorwölbungen oder -anhängsel an beiden Schwesterkernen zu beobachten.

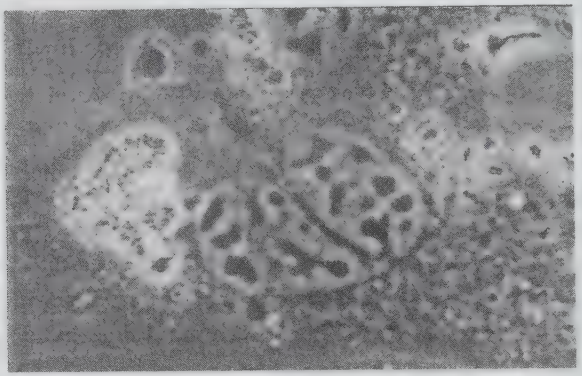


Abbildung 1: Kern einer pseudoamitotischen Tochterzelle einer multipolaren Mitose. Die Zelle geht 7.5 Stunden später in Mitose. Kerneinbuchtung (Pfeil). Phasenkontrast

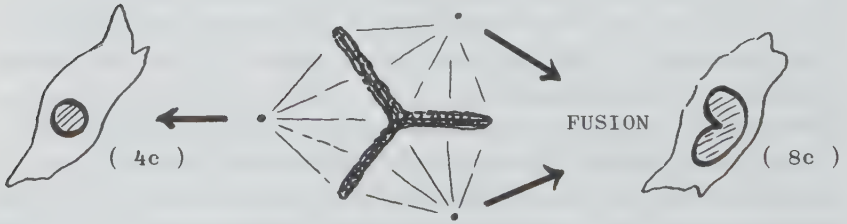


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Entstehung einer pseudoamitotischen Zelle durch Fusion von zwei Telophasenteilen einer multipolaren Mitose. [Zweikernige Zelle Nr. 99]

III.5. Ploidiebestimmung ein- und zweikerniger Zellen

III.5 a) Ploidie einkerniger Zellen

Die Ploidie von insgesamt 386 in der Lebendbeobachtung verfolgten einkernigen Zellen der euploiden (n = 301) und der aneuploiden (n = 85) Kultur wurde in der frühen G_1-Phase (hier der Zeitraum ca. 30 - 120 min nach der Anaphase) durch cytophotometrische Messung des relativen DNS-Gehalts ermittelt (Abb. 3a).
40.9 % der einkernigen Zellen waren diploid, 38.3 % tetraploid und 9.3 % triploid. In den übrigen Ploidieklassen waren die relativen Häufigkeiten gering: Hier schwankten die ermittelten Prozentzahlen zwischen 0.5 % (einkernige Zellen mit dem relativen DNS-Gehalt 7c) und 3.9 % (rel. DNS-Gehalt 6c).
1.8 % (7) der untersuchten einkernigen Zellen waren haploid.
In der Gruppe der einkernigen Zellen ließen sich ebenso wie in der der zweikernigen Zellen (Abb. 3b) in beiden Kulturen unterschiedliche Häufigkeitsverteilungen feststellen: Die einkernigen Zellen der jüngeren, euploiden Kultur zeigten zwei deutliche Häufigkeitsmaxima im diploiden und tetraploiden Bereich, wogegen die einkernigen Zellen der älteren, aneuploiden Kultur diese deutlichen Maxima vermissen ließen.

III.5 b) Ploidie zweikerniger Zellen

Die Ploidie von insgesamt 159 zweikernigen Zellen aus einer Zufallsstichprobe der aneuploiden (n = 62) und der euploiden (n = 97) Kultur wurde entweder direkt durch cytophotometrische Messung des relativen DNS-Gehalts von in der Lebendbeobachtung verfolgten zweikernigen G_1-Zellen oder indirekt durch Halbierung des cytophotometrisch bestimmten relativen Gesamt-DNS-Gehalts der G_1-Tochterzellen dieser zweikernigen Mutterzellen ermittelt (Abb. 3b).
43.4 % aller zweikernigen Zellen waren tetraploid. Besonders in der euploiden Kultur war der Anteil tetraploider zweikerniger Zellen an der Gesamtheit der zweikernigen Zellen deutlich erhöht: Hier waren 57.7 % (n = 97) der Zellen tetraploid.

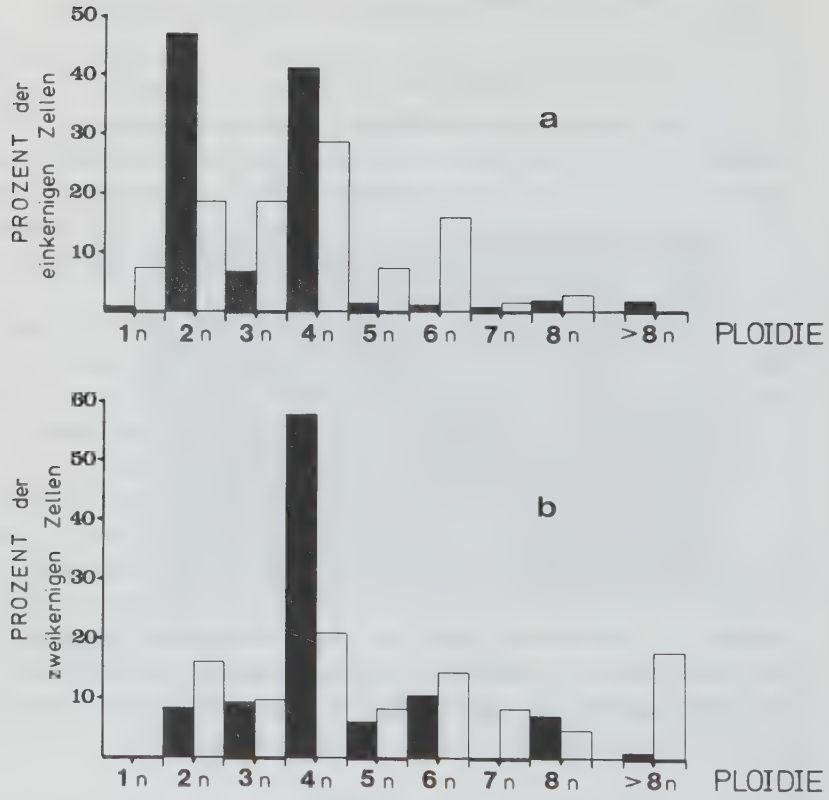


Abbildung 3 a und b: Häufigkeitsverteilung einkerniger (a) und zweikerniger (b) Zellen in der euploiden (schwarze Säulen) und der aneuploiden (weiße Säulen) Kultur nach ihrer Ploidie. (Ploidiebestimmung durch Messung des relativen DNS-Gehalts in der frühen G_1-Phase und/oder durch Halbierung des cytophotometrisch ermittelten rel. Gesamt-DNS-Gehalts der G_1-Tochterzellen zweikerniger Mutterzellen)

Der Prozentsatz zweikerniger Zellen beider Kulturen schwankte in den übrigen Ploidieklassen zwischen 3.1 % (zweikernige Zellen mit dem relativen DNS-Gehalt 7c) und 11.9 % (rel. DNS-Gehalt 6c). 11.3 % der zweikernigen Zellen waren diploid. In den cytophotometrisch untersuchten diploiden zweikernigen Zellen waren stets beide Zellkerne haploid. Triploide zweikernige Zellen fanden sich in 9.4 %; in weiteren Ploidieklassen war der Prozentsatz zweikerniger Zellen geringer: 6.9 % (rel. DNS-Gehalt 5c), 6.3 % (8c) und 7.5 % (alle höherploiden Zellen; d.h. rel. DNS-Gehalt größer als 8c). Haploide (1c) zweikernige Zellen konnten nicht beobachtet werden.
Während in der jüngeren, euploiden Kultur die Häufigkeitsverteilung der zweikernigen Zellen einen deutlichen Gipfel im tetraploiden Bereich (4c) zeigte, war die Häufigkeitsverteilung der zweikernigen Zellen aus der älteren, aneuploiden Kultur nicht durch auffällige Gipfel gekennzeichnet: Hier schwankten die Häufigkeiten je nach Ploidieklasse zwischen 4.8 % und 20.9 %. In der jüngeren, euploiden Kultur betrugen die entsprechenden Minimal- und Maximalwerte 1.0 % bzw. 57.7 %.

III.5 c) Zellploidie und Anzahl der Zellkerne

Die Häufigkeit ein- und mehrkerniger Zellen in den einzelnen Ploidieklassen ist in Abbildung 4 dargestellt. Hierbei wurden 563 Zellen (386 einkernige und 177 zwei- und mehrkernige) nach Ploidieklassen geordnet und der Prozentsatz ein- und mehrkerniger Zellen in jeder Ploidieklasse ermittelt.
Alle haploiden Zellen waren einkernig. Unter den diploiden Zellen fanden sich bereits 10.2 % mit zwei Kernen. Tetraploide Zellen hatten in 32.4 % zwei und mehr Kerne. Mit steigender Zellploidie nahm die Häufigkeit einkerniger Zellen ab. Bei den Ploidiestufen über 4n überwogen stets mehrkernige Zellen.
Eine Steigerung der Zellploidie wird also in erster Linie durch Vermehrung der Kernzahl, seltener durch Anstieg der Kernploidie erreicht.

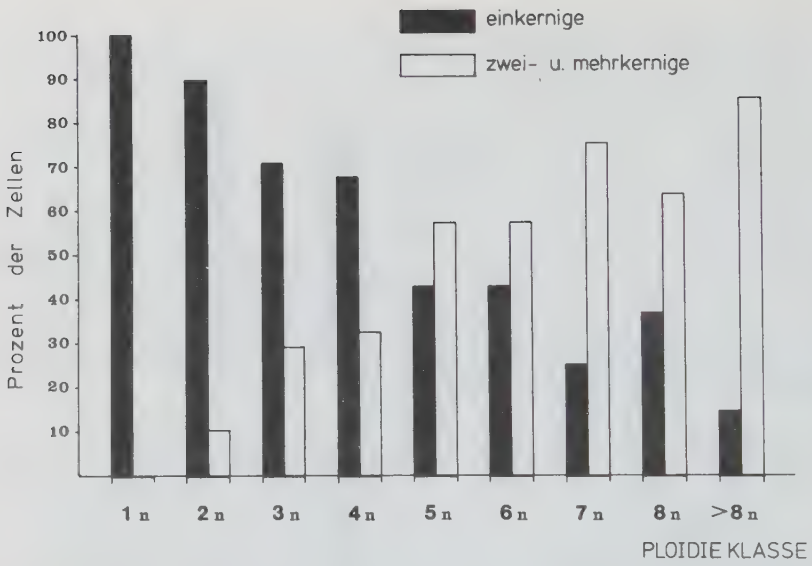


Abbildung 4: Häufigkeit einkerniger (schwarze Säulen) und zwei- und mehrkerniger (weiße Säulen) Zellen in den verschiedenen Ploidieklassen.

III.6. Mitosedauer zweikerniger Zellen

Insgesamt 33 zweikernige diploide und polyploide Zellen beider Kulturen konnten aufgrund gut erkennbarer mitotischer Vorgänge und kontinuierlicher Beobachtung während der gesamten Mitose für die Bestimmung der Mitosephasen herangezogen werden.
Die Mitosen wurden in zwei Gruppen aufgeteilt: in eine Mitosegruppe mit je zwei und eine Mitosegruppe mit drei und mehr Tochterkernen (Tabelle 4).
Wie Tabelle 4 zeigt, beträgt die Mitosedauer zweikerniger Zellen ca. 100 Minuten, unabhängig davon, ob durch einen bipolaren Spindelapparat zwei Tochterkerne oder durch eine multipolare Spindel drei oder mehr Tochterkerne gebildet werden. Zeitliche

Unterschiede der Teilphasen - vor allem der Prometaphase und der Metaphase - zwischen Zellen mit bipolarer und Zellen mit multipolarer Spindelanordnung sind vermutlich auf ungenaue Abgrenzung dieser beiden Mitosephasen zurückzuführen.
Die Gesamtdauer der Mitose zweikerniger Zellen ist fast doppelt so lang wie die Mitosedauer einkerniger Lungenfibroblasten derselben Species: MATTIAS (1977) fand hier Zeiten von 48 Minuten mittels der H_3-Thymidin-Markierungsmethode bzw. 46 - 52 Minuten nach BrdU-Markierung.

Tabelle 4: Dauer der Mitosephasen (in Minuten) von 33 diploiden und polyploiden Zellen (Bestimmung der Phasen nach Lebendbeobachtungen).

MITOSEPHASE	ZAHL DER TOCHTERKERNE	
	zwei (n = 18)	drei und mehr (n = 15)
M I T O S E	99.40 ± 24.02	99.60 ± 16.98
davon		
Prophase	20.47 ± 8.15	18.53 ± 5.69
Prometaphase	33.44 ± 13.34	24.00 ± 13.67
Metaphase	9.42 ± 7.40	21.26 ± 13.44
Anaphase	7.36 ± 2.60	8.33 ± 3.06
Telophase	36.05 ± 17.03	35.33 ± 14.46

III.7. Kernbewegungen

In großen ein- und mehrkernigen Zellen aus der Gewebekultur zeigen die Zellkerne kurz vor Eintritt in die Mitose häufig Rotations- (HUGHES und SWANN, 1948; FELL und HUGHES, 1949) oder Schaukelbewegungen (MOORHEAD und HSU, 1956). Diese Kernbewegungen wurden als das Bemühen des Zellkerns interpretiert, eine möglichst günstige Teilungsebene für die nachfolgende Mitose einzunehmen (GRUNDMANN, 1971).
Kernbewegungen wurden auch bei unseren Lebendbeobachtungen an mehrkernigen Zellen nicht selten gefunden. Hierbei ließen sich vier verschiedene Bewegungsmuster während Interphase und Prämitose unterscheiden:
1) Diskrete Kernbewegungen: Die beiden Zellkerne der zweikernigen Zelle lagen während der gesamten Interphase so dicht nebeneinander, daß ein "internukleärer Spalt" (vgl. Kap.III.9.) im Phasenkontrast nicht zu erkennen war. In diesen Zellen zeigten die Zellkerne manchmal diskrete prämitotische Schaukelbewegungen, die möglicherweise durch intensivere Cytoplasmaströmungen in der späten Interphase bedingt waren. In der frühen Prophase lagen die Kerne wie zwei Halbkugeln nebeneinander. Deutliche Kernbewegungen waren nicht erkennbar.
2) Direkte Annäherung: In der Interphase waren die beiden Zellkerne zunächst durch einen breiten cytoplasmatischen Zwischenraum getrennt; bis zum Beginn der Prophase bewegten sich die Kerne aufeinander zu, ohne daß dabei Schaukel- oder Rotationsbewegungen erkennbar waren. Der gesamte Bewegungsvorgang erstreckte sich über mehrere Stunden und konnte nur nachträglich aus einer Photoserie rekonstruiert werden. Am Ende der Interphase lagen beide Zellkerne unmittelbar nebeneinander. Bis zum Beginn der Prophase waren keine weiteren Kernbewegungen feststellbar.
3) Direkte Annäherung mit Rotationsbewegungen: Die Längsachsen der beiden ovalen Zellkerne lagen während der Interphase nicht parallel. Die Kerne bewegten sich solange aufeinander zu, bis ein Kontakt der Kernmembranen hergestellt zu sein schien. Jetzt führten die Kerne Drehbewegungen aus bis die Längsachsen

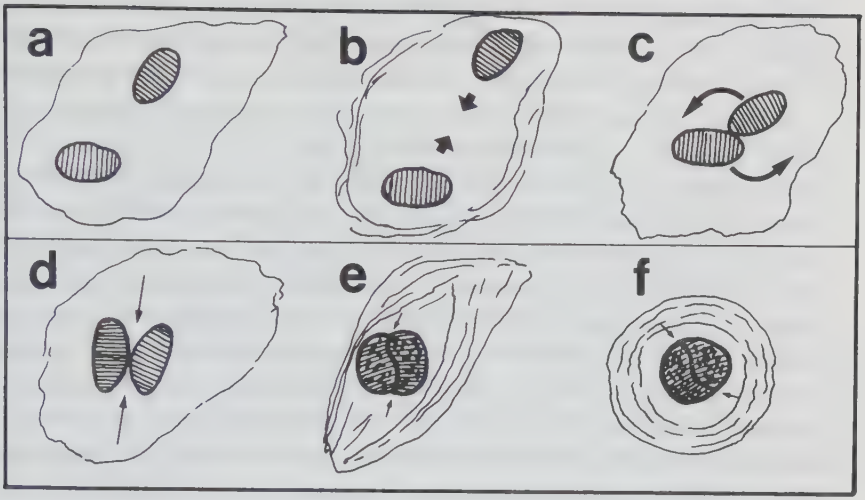


Abbildung 5 a - f:

Schematische Darstellung der Kernbewegungen einer zweikernigen Zelle während der Interphase und der frühen Prophase.

a) Rekonstruktionsphase: Die beiden Kerne sind durch einen breiten cytoplasmatischen Zwischenraum voneinander getrennt.
b) Frühe Interphase: Die Kerne bewegen sich aufeinander zu; gleichzeitig sind häufig Form- und Lageänderungen der Zelle festzustellen.
c) Späte Interphase: Die Kerne berühren sich. Dreh- und Rotationsbewegungen im Uhrzeigersinn und Gegenuhrzeigersinn schließen sich an.
d) Späte Interphase: Die Kerne berühren sich. Ihre Längsachsen laufen parallel. Noch besteht ein (hier unvollständiger) internukleärer Zwischenraum ("internukleärer Spalt").
e) Frühe Prophase: Ein internukleärer Zwischenraum ist nicht mehr zu erkennen. Die beide Kerne gegeneinander abgrenzende Doppelmembran verändert ihre Form.
f) Prophase: Die Kerne liegen wie zwei Halbkugeln nebeneinander. Zusammen bilden sie einen runden Doppelkern.

der beiden Zellkerne parallel waren. Im Phasenkontrast war nun ein internukleärer Cytoplasmabezirk kaum noch zu erkennen. Sobald sich die Kerne wie zwei Halbkugeln aneinandergeschmiegt hatten, fanden keine weiteren Bewegungen statt. Häufig folgte jetzt unmittelbar die Prophase. In Abbildung 5 ist dieses Bewegungsmuster schematisch dargestellt.

4)Annäherung und späteres Auseinanderrücken: Beide Zellkerne bewegten sich aufeinander zu. In der Mehrzahl der beobachteten Zellen wurde dieser Bewegungsvorgang in dem Moment beendet, in dem ein direkter Kontakt der Kernmembranen hergestellt zu sein schien. Im Gegensatz zu den übrigen im Phasenkontrast verfolgten Bewegungsmustern schloß sich hier jedoch keine Mitose an, sondern beide Zellkerne bewegten sich stattdessen nach 30 - 250 Minuten wieder voneinander fort; solange kein direkter Kontakt der beiden Zellkerne zu bestehen schien, trat keiner der beiden Kerne in die Mitose ein. Häufig war dieses Bewegungsmuster mit dem nachfolgenden Absterben der Zelle verknüpft; der Zelltod trat in den meisten Zellen 8 - 10 Stunden nach den ersten sichtbaren Kernbewegungen ein. Für die Technik der Lebendbeobachtung zwei- und mehrkerniger Zellen bedeutete dies, daß Zellen mit 'auseinanderrückenden Kernen' nicht weiter verfolgt wurden, da in der Regel mit dem Absterben der Zellen zu rechnen war. Abbildung 6 zeigt ein Kernpaar, das im Lauf von sechs Stunden dreimal einen direkten Kernmembrankontakt herstellte und durch Auseinanderrücken wieder aufhob; 560 Minuten nach den ersten deutlich sichtbaren Kernbewegungen starb die Zelle ab, während benachbarte einkernige Zellen keine Beeinträchtigung ihrer Teilungsaktivität erkennen ließen.

Da während der Interphase die Zellen nur in unregelmäßigen Abständen beobachtet und photographiert wurden, ist es nicht möglich, quantitative Angaben über Kernwanderungsgeschwindigkeit und Typus der Kernwanderung in zweikernigen Zellen zu machen. Generell kann jedoch gesagt werden, daß sich in zwei- und mehrkernigen Zellen die Zellkerne bis zum Beginn der Prophase aufeinanderzu bewegt haben müssen: Ein enger räumlicher Kernkontakt scheint in mehrkernigen Fibroblasten der

Erdmaus Voraussetzung für den Mitosebeginn zu sein. Damit unterscheiden sich zweikernige Microtus-Fibroblasten wesentlich von mehrkernigen HeLa- und PtK_1-Zellen, in denen auch bei weit auseinanderliegenden Zellkernen ein synchroner oder asynchroner Prophasebeginn beobachtet werden konnte (GHOSH, PAWELETZ und GHOSH, 1978; vgl. auch Kap. III.9. und IV.1.).
Die Kernbewegungsmuster in zweikernigen Zellen kurz vor der Mitose sind unterschiedlich und werden durch Form und Verhalten des Cytoplasmas beeinflußt. Deutliche Kernbewegungen wurden in weniger als 15.0 % aller während der Interphase verfolgten mehrkernigen Zellen (ca. 550) beobachtet.
In der Regel hatten sich die beiden Zellkerne bis zum Beginn der Prophase wie zwei Halbkugeln aneinandergedrückt. Im Phasenkontrast war der internukleäre Cytoplasmabezirk ("internukleärer Spalt") nicht mehr zu erkennen: Die Trennwand zwischen den beiden Kernen wurde jetzt von einer aus zwei Kernmembranen bestehenden Doppelmembran gebildet. Bis zum Ende der Prophase verlor diese Doppelmembran ihre gestreckte Form; sie wurde konkav eingedrückt bzw. S-förmig gebogen (Abbildung 20 a/b). Diese Veränderungen ähnelten sehr langsamen Oszillationen, die ebenso wie die allmähliche Verformung der Prophasekerne auf die von der sich bildenden Spindel ausgehenden Zug- und Schubkräfte zurückgeführt werden können.

III.8. Veränderungen der Cytoplasmabegrenzung

Kernbewegungen in zweikernigen Zellen wurden häufig noch durch ein amöboides Wandern der Zelle in der Beobachtungskammer sowie durch Veränderungen in der Zellform beeinflußt. In Hühnerherzfibroblasten stellte WENDT (1959) Wanderungsgeschwindigkeiten von etwa 30 μ pro Minute fest; die am schnellsten wandernden Fibroblasten der Erdmaus erreichten ähnliche Geschwindigkeiten. Jedoch bewegte sich die überwiegende Mehrzahl der Lungenfibroblasten kaum.
Bis zum Beginn der Prophase zeigten alle Zellen deutliche Veränderungen in der Zellform: Die in der Regel flachen Zellen

verkleinerten ihre Oberfläche indem sie Spindelform annahmen (Abbildung 16); bis zum Beginn der Prometaphase waren alle Zellen bis auf wenige Ausnahmen kugelförmig.

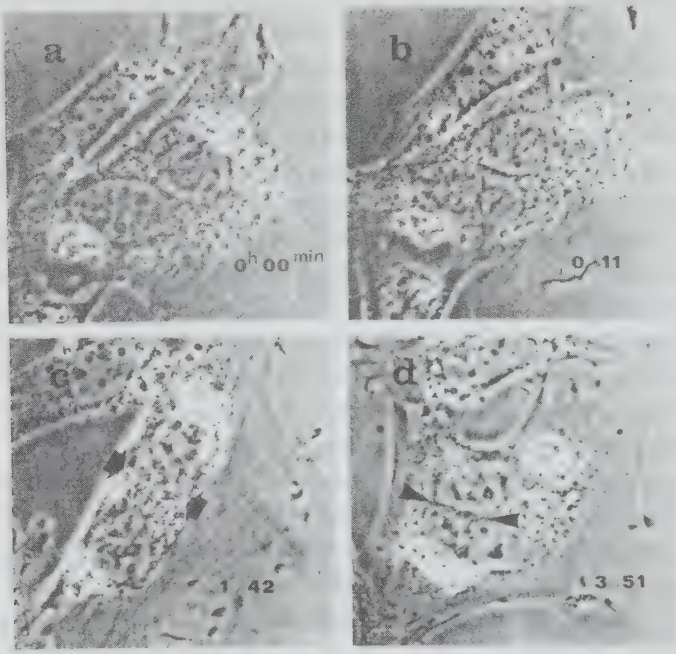


Abbildung 6 a - d: Kernbewegungen einer zweikernigen Zelle. Die beiden Kerne scheinen sich zu berühren (a) und gleichzeitig aneinander vorbei zu gleiten (b). Auseinanderrücken (c) und folgende Annäherung (d) erfolgten dreimal im Wechsel bis zum Absterben der Zelle (560 Minuten nach den ersten Kernbewegungen). - Pfeile kennzeichnen den breiten (c) und schmalen (d) internukleären Spalt - Phasenkontrast

III.9. Synchroner und asynchroner Prophasebeginn in zwei- und dreikernigen Zellen

In 82.3 % (144) aller im Zeitraum späte Interphase - Prophase beobachteten zweikernigen Zellen beider Kulturen (n = 175) war zu Beginn der Prophase ein streifenförmiger internukleärer Cytoplasmabezirk (internukleärer Spalt) lichtmikroskopisch nicht mehr nachweisbar. Die häufig ovalen Zellkerne lagen eng nebeneinander; die an dieser Stelle aus zwei Kernmembranen bestehende Doppelmembran war an der Berührungsstelle der beiden Kerne zu Prophasebeginn gestreckt. Im weiteren Verlauf der Prophase krümmte sie sich oder zeigte leichte S-förmige Biegungen (vgl. Abbildung 5c, 20b).
90.3 % dieser aus zwei aneinandergepreßten Zellkernen bestehenden Kernpaare (n = 144) wiesen einen synchronen, 9.7 % einen asynchronen Prophasebeginn auf.
Da es sich beim Übergang von der Interphase zur Mitose um einen langsamen, kontinuierlichen Vorgang handelt, bleibt das Erkennen des Prophasebeginns im Phasenkontrast auf grob morphologische Veränderungen des Karyoplasmas in einem späteren Prophasestadium beschränkt: Das Karyoplasma ist zu Beginn der Prophase feinschollig und wird mit fortschreitender Prophase immer grobscholliger gemustert, bis schließlich einige Schollen als einzelne, deutlich gegen die Umgebung abgrenzbare Chromosomen identifiziert werden können. Der kontinuierlich zunehmende Kondensierungsgrad der Chromosomen gestattet es, selbst minimale Unterschiede im Prophasegeschehen der beiden Kerne zu verfolgen, da schon innerhalb weniger Minuten das Karyoplasma sein Erscheinungsbild verändern kann. Der hier verwendete Begriff des Prophasebeginns bezieht sich immer auf die ersten deutlich erkennbaren Granulierungen und Schattierungen des Prophasekerns.
Kernpaare, die zu Beginn der Prophase einen internukleären Spalt erkennen ließen, waren selten. Sie fanden sich in 17.7 % (31) der beobachteten Zellen (n = 175). Wie die Lebendbeobachtung zudem zeigte, hatten sich auch diese Kerne spätestens bis zum Ende der Prophase so sehr genähert, daß der inter-

Tabelle 5: Übersicht über synchrones und asynchrones Verhalten der Kerne zweikerniger Fibroblasten zu Beginn der Prophase (Lebendbeobachtung) und während des gesamten Prophasestadiums (Giemsa-gefärbte Deckglaspräparate).

	INTERNUKLEÄRER SPALT		KEIN SPALT		
PROPHASEBEGINN zweikerniger Zellen in der Lebendbeobachtung	SYNCHRON	ASYNCHRON	SYNCHRON	ASYNCHRON	
	15.4 % (27)	2.3 % (4)	74.3 % (130)	8.0 % (14)	100.0 % (n = 175)
P R O P H A S E zweikerniger Zellen in fixierten Präparaten	SYNCHRON	ASYNCHRON	SYNCHRON	ASYNCHRON	
	2.2 % (5)	2.6 % (6)	86.8 % (198)	8.3 % (19)	100.0 % (n = 228)

nukleäre Spalt lichtmikroskopisch kaum noch zu erkennen war. Die in zwei- und mehrkernigen (künstlich fusionierten) Pflanzenzellen beschriebenen Doppelmitosen von weit auseinanderliegenden Zellkernen (GIMENEZ-MARTIN,1966; GONZALEZ-FERNANDEZ, LOPEZ-SAEZ und GIMENEZ-MARTIN, 1966; GIMENEZ-MARTIN, LOPEZ-SAEZ und MORENO, 1968; GONZALEZ-FERNANDEZ, GIMENEZ-MARTIN, DIEZ und DeLaTORRE, 1971), die in allen Mitosephasen durch einen breiten Cytoplasmasaum getrennt waren, konnten in Fibroblasten der Erdmaus nicht beobachtet werden.

Genauere Aussagen über das Verhältnis von synchronen zu asynchronen Prophasekernpaaren mit internukleärem Spalt sind aufgrund der relativ geringen Zahl beobachteter Zellen (n = 31) nicht möglich: 87.1 % (27) dieser Zellen ließen einen synchronen, 12.9 % (4) einen asynchronen Prophasebeginn erkennen.

In gefärbten Deckglaspräparaten können nur Aussagen über den Synchroniegrad der Prophasen zweikerniger Zellen, nicht aber über den Synchroniegrad des Prophasebeginns gemacht werden, da nur die kontinuierliche Beobachtung des Prophaseablaufs die zeitliche Einordnung des morphologischen Kernbefundes in die verschiedenen Mitosestadien gestattet:

Von 228 ausgewerteten Kernpaaren zeigten 78.9 % (217) keinen erkennbaren internukleären Spalt während der Prophase. Nur in 4.0 % (11) dieser zweikernigen, Giemsa-gefärbten Zellen war in der Prophase ein internukleärer Spalt zu erkennen. In den Kernpaaren ohne internukleären Spalt (n = 217) waren 91.2 % (198) der prophasischen Anfangsstadien synchron und 8.8 % (19) asynchron; in den Kernpaaren mit erkennbarem internukleären Spalt (n = 11) wurden 45.4 % (5) synchrone und 54.5 % (6) asynchrone Prophasen gefunden.

Die in Tabelle 5 wiedergegebenen Prozentzahlen beziehen sich jeweils auf a l l e in der Lebendbeobachtung bzw. in Deckglaspräparaten untersuchten Kernpaare: 89.7 % (157) der lebendbeobachteten Kernpaare (n = 175) hatten einen synchronen und 10.3 % (28) einen asynchronen Prophasebeginn.

Tabelle 6: Zwei- und dreikernige Zellen mit asynchronem Prophasebeginn.

Die Tabellennummern beziehen sich auf die in Tabelle 1 aufgelisteten Zellen.

* : Zellen mit hohem Asynchroniegrad. Siehe Text.

A : Zweikernige Zellen der euploiden Kultur.

B : Zweikernige Zellen der aneuploiden Kultur.

C : Dreikernige Zelle der aneuploiden Kultur.

TABELLEN-NUMMER	PLOIDIE	SPINDEL-POLE	SPALT	MITOSE (min)	PROPHASE (min)	KULTUR
52	-	multipol.	-	93	15	A
58	4 n	bipol.	-	128	10	A
63	8 n	bipol.	-	78	18	A
64	5 n	multipol.	-	123	17	A
65	4 n	bipol.	-	170	20	A
71 *	6 n	multipol.	SPALT	518 ! 278	300 60	A
79 *	4 n	bipol.	-	97	39	A
81	4 n	bipol.	SPALT	90	17	A
87	5 n	multipol.	-	110	26	A
92	4 n	multipol.	-	-	49	A
93	4 n	bipol.	SPALT	117	-	A
101	6 n	multipol.	-	120	30	A
- *	-	bipol.	-	130	45	A
- *	-	-	-	-	40	A
164	6 n	multipol.	-	80	15	B
166	4 n	bipol.	-	-	-	B
198 *	10 n	multipol.	-	185	40	B
203 *	21 n	multipol.	SPALT	105	40	B
50	ca. 6 n	multipol.	-	300	195	C

In sechs zweikernigen Zellen (* in Tabelle 6) mit asynchronem Prophasebeginn war ein großer zeitlicher Abstand zwischen den entsprechenden Prophasestadien beider Zellkerne festzustellen: Während die deutlich erkennbare Chromosomenkondensation des einen Kerns bereits auf das Ende der Prophase hindeutete, fand sich im zweiten Kern überhaupt noch keine oder eine gerade erst beginnende diskrete Kondensation der Chromosomen. In allen Fällen, in denen ein derartig hoher Asynchroniegrad beobachtet wurde, dauerte die Prophase mindestens genauso lange - meistens jedoch länger - als in zweikernigen Zellen mit synchronem Prophasebeginn; in einem Fall sogar länger als 300 Minuten. In diesen Zellen (300-min-Prophase nicht berücksichtigt) betrug die durchschnittliche Prophasedauer 40.8 $\pm$ 2.1 min; sie lag damit weit über der durchschnittlichen Prophasedauer zweikerniger Zellen mit asynchronem Prophasebeginn (28.1 $\pm$ 12.5 min; n = 15) und der durchschnittlichen Prophasedauer zweikerniger Zellen mit synchronem Prophasebeginn (20.96 $\pm$ 7.9 min; n = 31). Die entsprechenden Mitosezeiten sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Aus Tabelle 7 geht hervor, daß mit wachsendem Asynchroniegrad des Prophasebeginns zweikerniger Zellen sowohl die Prophase- als auch die Mitosezeit zunimmt. Im Vergleich mit Mitosen zweikerniger Zellen mit zwei,drei und mehr Tochterkernen ist die Mitosedauer der Zellen mit hohem Asynchroniegrad um fast 30 Minuten länger.
Ein zwischen zwei asynchronen Prophasekernen existierender Spalt scheint keinen wesentlichen Einfluß auf die Länge der Prophase zu haben; dagegen ist die Mitose in asynchronen Kernpaaren mit internukleärem Spalt etwas kürzer (104 $\pm$ 11.0 min) als in asynchronen Kernpaaren ohne Spalt (119.4 $\pm$ 32.5 min).

Der in der Mitose weiter fortgeschrittene Kern eines asynchronen prophasischen Kernpaares erreichte, wie die Beobachtung des Chromosomenkondensationsgrades zeigte, stets ohne Unterbrechung das Ende des Prophasestadiums, jedoch blieb die jetzt eigentlich zu erwartende Auflösung der Kernmembran mit nachfolgender Spindelbildung solange aus, bis auch der in der Entwicklung verlangsamte

Tabelle 7: Prophasezeiten und Mitosezeiten zweikerniger, in der Lebendbeobachtung verfolgter Lungenfibroblasten. Angaben in Minuten.

	PROPHASE	MITOSE
Zweikernige Zellen mit zwei Tochterkernen	20.74 ± 8.15 (n = 19)	99.4 ± 24.02 (n = 18)
Zweikernige Zellen mit drei und mehr Tochterkernen	18.53 ± 5.69 (n = 15)	99.6 ± 16.98 (n = 15)
Zweikernige Zellen mit synchronem Prophasebeginn	20.96 ± 7.9 (n = 31)	97.05 ± 18.01 (n = 34)
Zweikernige Zellen mit asynchronem Prophasebeginn		
GESAMT	28.10 ± 12.5 (n = 15)	116.1 ± 29.90 (n = 15)
Kein Spalt	28.00 ± 5.3 (n = 12)	119.4 ± 32.50 (n = 11)
Spalt	28.50 ± 11.5 (n = 2)	104.0 ± 11.00 (n = 3)
Zweikernige Zellen mit hohem Asynchroniegrad (siehe Text: *)	40.80 ± 2.1 (n = 5)	129.25 ± 34.4 (n = 4)

Kern dieses Stadium erreicht hatte. Erst jetzt lösten sich die Membranen beider Kerne synchron auf, und die Chromosomen bildeten eine gemeinsame Metaphasenfigur.
Ein in zweikernigen Nierenepithelzellen der Erdmaus beschriebener asynchroner Auflösungsvorgang beider Kernmembranen (PERA, 1970), der von PETERSON und BERNS (1979) auch in Heterokaryonten (PtK_2-Zellen / menschliche Fibroblasten) beobachtet wurde, fand sich in den in der Lebendbeobachtung verfolgten zweikernigen Lungenfibroblasten der Erdmaus nicht.
Der durchschnittliche zeitliche Abstand zwischen zwei in ihrer Entwicklung unterschiedlich weit fortgeschrittenen Prophasekernen betrug gewöhnlich nicht mehr als 2 - 4 Minuten; in diesem Zeitraum hatte der im Ausmaß seiner Chromosomenkondensation zurückgebliebene Kern das Stadium des schnelleren Kerns erreicht. In den oben besonders erwähnten Zellen mit hohem Asynchroniegrad wurden zeitliche Unterschiede von 5 - 15 Minuten beobachtet. Ein Kernpaar zeigte eine zeitliche Asynchroniedifferenz von 240 Minuten.

Ein Nebeneinander von Prophase des einen und Metaphase des anderen Zellkerns einer zweikernigen Zelle wurde nie beobachtet. Auch in gefärbten Deckglaspräparaten fanden sich keine Anzeichen für ein derartiges Ereignis. Die Lebendbeobachtung zeigte vielmehr, daß in zweikernigen Zellen eine Asynchronie im mitotischen Geschehen der beiden Kerne nur bis zum Ende der Prophase zu finden ist. Mit der stets synchronen Auflösung der beiden Kernmembranen beginnend, laufen alle folgenden mitotischen Ereignisse völlig synchron ab. Dieser hohe Synchroniegrad findet sich selbst während der Anaphase von Zellen mit mehreren Spindelfiguren: Die Chromatiden sämtlicher Chromosomen werden im selben Moment bewegt. Diese Aussage gilt jedoch nur für das im Phasenkontrast erkennbare, relativ ungenaue Bild der beiden anaphasischen Chromatidengruppen. Es kann durchaus möglich sein, daß geringe Asynchroniedifferenzen zwischen einzelnen Chromosomen bestehen. Dieselbe Synchronie der Anaphasevorgänge wurde auch in drei zweikernigen Zellen mit je zwei voneinander getrennten, übereinanderliegenden bipolaren Metaphasenfiguren ("Etagenmitose") beobachtet.

In allen durch Fusion von zwei Schwesterzellen entstandenen Tochterzellen zweikerniger Mutterzellen wurde ein synchroner Prophasebeginn beobachtet. Nicht-fusionierte ein- und mehrkernige Schwesterzellen dagegen teilten sich zu Zeiten, die häufig mehrere Stunden auseinanderlagen (Kapitel III. 14.).

Zwölf zweikernige Zellen wurden beobachtet, deren Zellkerne am Ende der Interphase schon alle die für die beginnende Prophase charakteristische Granulierung des Karyoplasmas aufwiesen; die beiden Kerne eines jeden Kernpaares waren durch einen internukleären Spalt voneinander getrennt. Obwohl die Prophasen dieser Zellen über einen Zeitraum von 7 - 12 Stunden verfolgt wurden, konnte in keinem der zwölf Fälle die Auflösung der Kernmembran und der Beginn der Metaphase beobachtet werden. Drei dieser Zellen gingen innerhalb von acht Stunden zugrunde. Die Lebendbeobachtung der restlichen Zellen wurde spätestens nach 12 Stunden abgebrochen. Zu diesem Zeitpunkt hatte sich das Kernbild noch nicht wesentlich geändert.
Dagegen zeigten andere zweikernige Zellen, deren Kerne sich erst zu Beginn der Prophase aneinandergelegt hatten, einen regulären Mitoseablauf. Es ist möglich, daß die beobachteten zwölf Zellen mit ausbleibender Prophase durch Noxen (Kälte, Hitze, Veränderungen im Nährmedium, intensive Belichtung etc.) geschädigt wurden. In diesem Fall wäre die sogenannte charakteristische prophasische Kerngranulierung ein Zeichen der Kernpyknose.

In einer zweikernigen Zelle, deren Kerne nicht durch einen im Phasenkontrast erkennbaren internukleären Spalt getrennt waren, fand sich ein asynchroner Prophasebeginn. Nach ca. 90 Minuten strebten die beiden Kerne etwas auseinander, so daß jetzt ein internukleärer Spalt sichtbar wurde. Auch der im Mitosegeschehen ursprünglich weiter zurückgebliebene Kern hatte nun das späte Prophasestadium erreicht, in dem die beiden Kerne solange verharrten, bis sie sich nach 240 Minuten wieder wie zwei Halbkugeln zu einem Kernpaar ohne erkennbaren internukleären Spalt zusammenlegten. Ein regulärer Mitoseablauf schloß sich unverzüglich an.

In zwei anderen zweikernigen Zellen zogen sich ähnliche prophasische Kernbewegungen über 300 bis 500 Minuten hin: Ein internukleärer Spalt wurde sichtbar, verschwand, wurde wieder sichtbar, bis die Zellen schließlich zugrunde gingen. Diese Vorgänge waren hier wohl auf eine zu intensive Belichtung zurückzuführen.
Zellen mit Mikrokernen und dreikernige Zellen verhielten sich während der Prophase nicht wesentlich anders als zweikernige Zellen. Von den beobachteten dreikernigen Zellen zeigten sieben einen synchronen und eine einen asynchronen Prophasebeginn. Mikrokerne verhielten sich zu Beginn der Prophase wie die großen Zellkerne: Sie legten sich an einen Nachbarkern, und es kam zu einem synchronen Prophasebeginn; in der Prometaphase wurden die Chromosomen dann in eine gemeinsame Prometaphasengruppe integriert.

Die im Zeitraum Interphase - Prophase durchgeführten Beobachtungen deuten darauf hin, daß in einer zweikernigen Zelle ein enger Zellkernkontakt zwar nicht für den Prophasebeginn, jedoch für einen kontinuierlichen Mitoseablauf, d.h. in diesem Fall für die Bildung einer gemeinsamen Prometaphasengruppierung und die Entstehung einer Metaphasenfigur, notwendig ist.

In der jüngeren, euploiden Kultur wurden acht zweikernige Zellen beobachtet, die die für das frühe Prophasestadium charakteristische feinkörnige bis fädige Strukturierung des Karyoplasmas aufwiesen. Die relativ kleinen Zellkerne lagen zwar dicht nebeneinander, sie berührten sich jedoch nicht. Dieses Stadium dauerte 30 - 90 Minuten, dann löste sich die feinkörnige Musterung des Karyoplasmas unmerklich wieder auf. Bei der Kontrollbeobachtung mehrere (8 - 10) Stunden später erschien das Karyoplasma bis auf die stets sichtbaren Nukleolen wieder klar und unstrukturiert. Messungen des relativen DNS-Gehalts wurden hier jedoch nicht durchgeführt. Es ist möglich, daß es sich bei diesen Vorgängen um Endomitosen gehandelt hat.

III.10. Spindelpole

Im Gegensatz zu den von vielen Autoren (RATTNER und BERNS, 1976; ROOS, 1976; PETERSON und BERNS, 1979) für die Lebendbeobachtung und Untersuchungen des Spindelapparates verwendeten PtK_1- und PtK_2-Rattenkänguruhzellen ließen die in dieser Arbeit beschriebenen Lungenfibroblasten der Erdmaus im Phasenkontrastbild keine Spindelpole erkennen. Die Anzahl der Spindelpole mußte deshalb auf indirektem Weg bestimmt werden; die Bestimmungsmethode und die mit ihr verknüpfte Problematik werden in Kapitel III.3. und III.20.)näher erläutert.

Über die Lage der Spindelpole lassen sich - wenn überhaupt - nur vage Aussagen machen. Trotzdem sollen hier einige für die Mehrzahl der untersuchten Mitosen repräsentative Beobachtungen erwähnt werden, die möglicherweise indirekt Aussagen über Lage und Distanz der Pole zulassen.

Aus einstrahligen vierpoligen Mitosen (Abbildung 7a) gingen vier einkernige Zellen hervor, deren Zellkerne den relativen DNS-Gehalt 2c besaßen. Neben einer langen, schlanken Metaphasenplatte konnten auf beiden Seiten der Mitosefigur je zwei undeutlich gegeneinander abgesetzte Archiplasmakegel beobachtet werden, die ebenso wie die später in diesem Bereich liegenden Telophasenteile auf einen definierten Abstand zwischen den beiden Polen einer Seite hinwiesen.

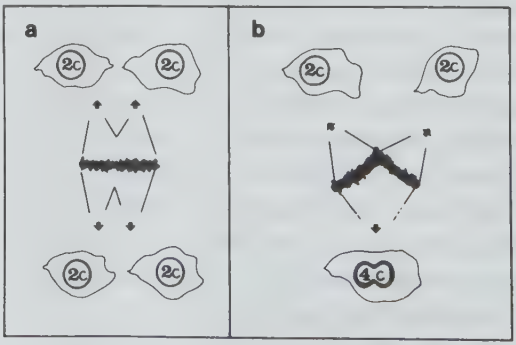


Abbildung 7 a und b: Schematische Darstellung multipolarer Mitosen. Spindelpole nicht sichtbar. (a: Nr.27/132; b: Nr.15/78)

Die Mitosen polyploider einkerniger Zellen der aneuploiden Kultur (n = 10) zeigten eine wesentlich andere Häufigkeitsverteilung als sich in der euploiden Kultur fand: 80.0 % der aneuploiden Mitosen hatten ein negatives Polzahldefizit: Sie hatten einen (30.0 %), drei (20.0 %) oder vier Spindelpole (30.0 %) weniger als erwartet. Ein deutliches Maximum der Häufigkeitsverteilung existierte nicht.

b3) Polyploide Mitosen zweikerniger Zellen

Die Mitosen polyploider zweikerniger Zellen (Tabelle 10 c) der euploiden Kultur (n = 67) hatten in 25.4 % das Polzahldefizit 0. In 1.5 % der Mitosen fand sich das Polzahldefizit +1. Insgesamt 73.1 % der Mitosen ließen negative Polzahldefizitwerte erkennen, die zwischen -1 (19.4 %) und -6 (1.5 %) schwankten; ein deutliches Maximum lag bei -2 (41.8 %).
Von den Mitosen polyploider zweikerniger Zellen der aneuploiden Kultur (n = 29) lagen 68.9 % zwischen den Polzahldefizitwerten -1 (20.7 %) und -4 (3.4 %). 17.2 % zeigten ein Polzahldefizit kleiner als -6. In 6.9 % war das Polzahldefizit 0; ebensoviele Mitosen hatten das Polzahldefizit +1. Deutliche Maxima der Häufigkeitsverteilung wie in der euploiden Kultur fanden sich hier nicht.

b4) Tetraploide Mitosen beider Kulturen

Um neben dem Polzahldefizit auch eine Aussage über die tatsächlich vorhandene Spindelpolzahl zu erhalten, wurden die tetraploiden Mitosen ein- und zweikerniger Zellen beider Kulturen (n = 75) gesondert aufgeführt (Tabelle 10 d). Die so gewonnene Häufigkeitsverteilung bestätigt das durch die Untersuchung aller polyploiden ein- und zweikernigen Zellen gewonnene Bild: Auch bei den tetraploiden Mitosen ein- und zweikerniger Zellen überwogen die Mitosen mit negativem Polzahldefizit (77.3 % bzw. 73.6 %), d.h. in diesem Fall Mitosen mit zwei oder drei Polen. Nur ein geringer Teil (2.7 %) aller tetraploiden Mitosen erreichte ein positives Polzahldefizit. In insgesamt 22.7 % waren Zahl der Chromosomensätze und Zahl der Spindelpole identisch. Ein Häufigkeitsmaximum lag auch

hier bei -2: 54.7 % aller tetraploiden Mitosen hatten zwei Spindelpole.
Zwischen dem mitotischen Verhalten der einkernigen tetraploiden Zellen (n = 22) und dem der zweikernigen tetraploiden Zellen (n = 53) ließen sich Unterschiede aufzeigen: Tetraploide Mitosen einkerniger Zellen hatten zwei (63.6 %), drei (13.6 %) oder vier Spindelpole (22.7 %); die bipolare Spindel war hier die häufigste Teilungsfigur. Tetraploide Mitosen zweikerniger Zellen konnten auch fünf Spindelpole aufweisen (3.8 %); allerdings waren die vierpoligen (22.6 %), dreipoligen (22.6 %) und zweipoligen Mitosen (50.9 %) häufiger anzutreffen.
Die Häufigkeitsverteilung der tetraploiden Mitosen zweikerniger Zellen ist in Relation zu der der einkernigen tetraploiden Zellen nach rechts verschoben. Diese Rechtsverschiebung deutet daraufhin, daß tetraploide Mitosen zweikerniger Zellen im Durchschnitt mehr Spindelpole (= ein positiveres Polzahldefizit) hatten als tetraploide Mitosen einkerniger Zellen.

b5) Polyploide Mitosen beider Kulturen

Das Polzahldefizit von 127 Mitosen polyploider ein- und zweikerniger Zellen beider Kulturen wurde bestimmt, wobei die Mitosen nach der Kernzahl ihrer Prophasezellen differenziert in die Gruppe der einkernigen und die der zweikernigen polyploiden Zellen eingeteilt wurden.
Die Mitosen einkerniger polyploider Zellen beider Kulturen (n = 31) hatten in 80.7 % weniger Spindelpole als theoretisch möglich gewesen wäre; das Polzahldefizit schwankte in diesen Mitosen zwischen -1 (16.1 %) und -4 (9.7 %); ein Häufigkeitsmaximum fand sich beim Polzahldefizit -2 (45.2 %). Nur 19.3 % der Mitosen einkerniger polyploider Zellen hatten genausoviele Spindelpole wie Chromosomensätze (Polzahldefizit 0). Ein positives Polzahldefizit fand sich in keiner Mitose.
Die Mitosen zweikerniger polyploider Zellen beider Kulturen (n = 96) dagegen hatten in 3.1 % einen Spindelpol mehr als ihre Ploidie erwarten ließ. In insgesamt 7.4 % war ihr Polzahldefizit kleiner als -4. Auch hier fand sich ein Häufigkeitsmaximum bei

-2 (41.7 %). 14.6 % hatten das Polzahldefizit 0.
Ebenso wie Tabelle 10 a-d zeigt auch diese Aufstellung, daß polyploide Mitosen in der Mehrzahl der Fälle keineswegs genausoviele Spindelpole wie Chromosomensätze hatten: Die Mitosen einkerniger polyploider Zellen besaßen in 80.7 % weniger Spindelpole als theoretisch unter der oben erörterten Voraussetzung (Zahl der Chromosomensätze = Zahl der Centriolen = Zahl der Spindelpole) zu erwarten gewesen wäre; in der Gruppe der zweikernigen polyploiden Zellen betrug der entsprechende Anteil 82.3 %.
In den Mitosen der einkernigen und der zweikernigen polyploiden Zellen nahm die Polzahldefizithäufigkeit von +1 (0.0 % / 3.1 %) bis -2 (45.2 % / 41.7 %) zu, um danach steil abzufallen. In 19.4 % der Mitosen einkerniger und in 20.8 % der Mitosen zweikerniger polyploider Zellen war das Polzahldefizit kleiner als -2. Eine exakte Übereinstimmung zwischen Zahl der Chromosomensätze und Zahl der Spindelpole fand sich nur in 19.3 % der Mitosen einkerniger und in 14.6 % der Mitosen zweikerniger polyploider Zellen. Ein Polzahldefizit größer als +1 wurde nicht gefunden.

III.11 c) Polarität

In Tabelle 11 a-d wurden die in der Lebendbeobachtung verfolgten polyploiden Mitosen nach der Zahl ihrer Spindelpole gesondert aufgelistet ("Spindelpole"). Um die unterschiedlichen, zumindest theoretisch denkbaren Entstehungsmöglichkeiten multipolarer Spindelfiguren anhand der durchgeführten Lebendbeobachtungen später (Kapitel IV.7.) erläutern zu können, wird schon hier der Begriff des "Ordnungsprinzips" eingeführt, auf den sich die römischen Ziffern unter der letzten Spalte beziehen. Nach der Hypothese von der Organisation der mitotischen Spindel nicht durch Centriolen oder andere Microtubuli-organisierende Strukturen sondern vielmehr durch ein noch nicht genauer bekanntes intrazellulares Ordnungs- bzw. Organisationsgefüge ist jede Zelle bemüht, eine b i p o l a r e einstrahlige Spindelfigur zu bilden. Nach dieser These bedeutet folglich jeder "zusätzliche"

Tabelle 11 a-d: Anzahl der Spindelpole polyploider, in der Lebendbeobachtung verfolgter Mitosen. Ordnungsprinzip: Die römischen Ziffern kennzeichnen die zur zweipoligen Grundzahl zusätzlich vorhandenen Spindelpole. Angaben in Prozent

	SPINDELPOLE					Anzahl der Mitosen
	2	3	4	5	6	
a) Polyploide Mitosen ein- u. mehrkerniger Zellen						
1. euploid	44.3	27.3	26.1	1.1	1.1	88
2. aneuploid	34.1	26.8	21.9	12.2	4.9	41
3. beide Kulturen	41.1	27.1	24.8	4.6	2.3	129
b) Polyploide Mitosen einkerniger Zellen						
1. euploid	66.7	19.0	14.3	-	-	21
2. aneuploid	60.0	10.0	20.0	10.0	-	10
c) Polyploide Mitosen zweikerniger Zellen						
1. euploid	37.3	29.8	29.8	1.5	1.5	67
2. aneuploid	24.1	31.0	24.1	13.8	6.9	29
d) Polyploide Mitosen beider Kulturen						
1. einkernige	64.5	16.1	16.1	3.2	-	31
2. zweikernige	33.3	30.2	28.1	5.2	3.1	96
		+ I	+ II	+ III	+ IV	
	ORDNUNGSPRINZIP					

Spindelpol einen Schritt vom Ordnungsprinzip fort. Ein in diesem Zusammenhang zu verstehendes ZUVIEL an Spindelpolen ist deshalb je nach Polzahl mit +I, +II, +III und +IV gekennzeichnet.

c1) Polyploide Mitosen ein- und mehrkerniger Zellen

In Tabelle 11 a wurden die relativen Häufigkeiten der polyploiden Mitosen von insgesamt 129 Zellen der aneuploiden (n = 41) und der euploiden Kultur (n = 88) in Bezug zu ihrer Spindelpolzahl aufgeführt. Tabelle 11 a zeigt, daß polyploide Mitosen mit hoher Polzahl im Gesamtkollektiv seltener waren als solche mit geringerer Polzahl. So hatten 41.1 % der polyploiden Mitosen zwei, 27.1 % drei, 24.8 % vier, 4.6 % fünf und 2.3 % sechs Spindelpole. Zwischen der aneuploiden Kultur und der euploiden Kultur ließen sich Unterschiede in der Polzahl der polyploiden Mitosen feststellen: Während die polyploiden Zellen der euploiden Kultur nur wenige Mitosen mit fünf oder sechs Spindelpolen (je 1.1 %) bildeten, verlief die Häufigkeitsverteilung der polyploiden aneuploiden Mitosen stetig abfallend weiter nach rechts (Rechtsverschiebung), so daß hier noch 12.2 % der Mitosen fünf und 4.9 % sechs Spindelpole hatten. Diese relative Rechtsverschiebung der polyploiden Mitosen der aneuploiden Kultur zeigte sich auch darin, daß die polyploiden Zellen der euploiden Kultur im Vergleich mit den aneuploiden Zellen häufiger zwei-, drei- und vierpolige Mitosen bildeten.

c2) Polyploide Mitosen einkerniger und zweikerniger Zellen

Die in Tabelle 11 a und b wiedergegebenen Häufigkeitsverteilungen der Mitosen polyploider einkerniger und polyploider zweikerniger Zellen beider Kulturen unterstreichen die schon in Tabelle 11 a beschriebene relative Rechtsverschiebung der aneuploiden gegenüber den euploiden Mitosen: Sowohl in der euploiden als auch in der aneuploiden Kultur nahm die relative Häufigkeit polyploider Mitosen mit zunehmender Spindelpolzahl ab; dieser Häufigkeitsabfall war in der aneuploiden Kultur jedoch weniger steil als in der euploiden Kultur, so daß die Häufigkeitsverteilung insbesondere der Mitosen polyploider einkerniger Zellen der aneu-

ploiden Kultur zugunsten der vier-, fünf- und sechspoligen Mitosen nach rechts verschoben war.
Die Mitosen polyploider einkerniger Zellen der euploiden Kultur hatten in 66.7 % zwei, in 19.0 % drei und in 14.3 % vier Spindelpole. Dagegen hatten die Mitosen polyploider zweikerniger Zellen derselben Kultur (Tabelle 11 c) nur in 37.3 % zwei, in 29.8 % drei und vier und in 1.5 % fünf und sechs Spindelpole, was in der oben erklärten Terminologie einer Rechtsverschiebung der Mitosen zweikerniger Zellen gegenüber den Mitosen einkerniger Zellen entspricht.
Eine vergleichbare Rechtsverschiebung war auch in den Mitosen ein- und zweikerniger polyploider Zellen der aneuploiden Kultur zu erkennen (Tabelle 11 b und c). Die Mitosen polyploider einkerniger Zellen der aneuploiden Kultur hatten zwei (60.0 %), drei (10.0 %), vier (20.0 %) und fünf Pole (10.0 %); die Mitosen der zweikernigen Zellen dagegen ließen eine andere Häufigkeitsverteilung erkennen: 24.1 % waren zweipolig, 31.0 % drei-, 24.1 % vier-, 13.8 % fünf- und 6.9 % sechspolig.

c3) Polyploide Mitosen beider Kulturen

Nach denselben Kriterien wie in Tabelle 11 a-c wurden in Tabelle 11 d 127 Mitosen polyploider Zellen beider Kulturen aufgeführt, jedoch wurde hier nicht zwischen euploid und aneuploid sondern vielmehr nach der Kernzahl der Zellen differenziert.
Es fand sich eine Rechtsverschiebung zugunsten der polyploiden zweikernigen Zellen: drei- und mehrpolige Mitosen waren in zweikernigen polyploiden Zellen jeweils häufiger als in einkernigen; bipolare Mitosen dagegen fanden sich häufiger in einkernigen als in zweikernigen polyploiden Zellen.

III.11 d) Äquatorialplatte

Für die Diskussion des intrazellularen Ordnungsprinzips als Spindelorganisator (Kapitel IV.7i) erschien es notwendig, den Begriff des Ordnungsprinzips bzw. der intrazellularen Organisationsstruktur nicht nur auf die Polarität einer Spindelfigur

Tabelle 12 a-d: Häufigkeiten verschiedener Metaphasenfiguren in ein- und mehrkernigen polyploiden Zellen.

Angaben in Prozent

	FORM DER METAPHASENFIGUR			Anzahl der Mitosen
a) Polyploide Mitosen ein- u. mehrkerniger Zellen				
1. euploid	56.8	34.1	9.1	88
2. aneuploid	39.0	51.2	9.8	41
3. beide Kulturen	51.2	39.5	9.3	129
b) Polyploide Mitosen einkerniger Zellen				
1. euploid	66.7	19.0	14.3	21
2. aneuploid	55.6	33.3	11.1	9
c) Polyploide Mitosen zweikerniger Zellen				
1. euploid	52.2	40.3	7.5	67
2. aneuploid	27.6	62.1	10.3	29
d) Polyploide Mitosen beider Kulturen				
1. einkernige	63.3	23.3	13.3	30
2. zweikernige Zellen	44.8	46.9	8.3	96

zu beschränken sondern vielmehr auch auf die Form der Metaphasenfigur auszudehnen: Statt der b i p o l a r e n ist hier die e i n s t r a h l i g e , geradlinig gestreckte Spindelfigur (mit zwei und mehr Spindelpolen) als der von der Zelle erstrebte Idealzustand der mitotischen Teilungsfigur gewählt worden. Die in Tabelle 12 aufgeführten Mitosen sind mit den entsprechenden Kollektiven aus Tabelle 10 und 11 identisch; eine Mitose einer einkernigen aneuploiden Zelle (Tabelle 12 b,d) wurde jedoch nicht aufgeführt, da die Form ihrer Metaphasenfigur nicht eindeutig identifiziert werden konnte.
Während der Lebendbeobachtung ließen sich in polyploiden Zellen verschiedene Formen der metaphasischen Chromosomenanordnung unterscheiden, die in Tabelle 12 zu drei Hauptgruppen zusammengefaßt sind: Ein-, drei- und vierstrahlige Metaphasen. Die V- und Y-förmigen Metaphasen wurden als eine einheitliche Gruppe dreistrahliger Mitosefiguren zusammengefaßt. Metaphasen mit mehr als vier Strahlen konnten nicht eindeutig erkannt werden; ihr Vorkommen ist jedoch wahrscheinlich. Diese Metaphasen mit (fraglicher) hoher Strahlenzahl wurden der Gruppe der vierstrahligen Teilungsfiguren zugeordnet.

d1) Polyploide Mitosen ein- und mehrkerniger Zellen

Insgesamt 51.2 % der Mitosen polyploider Zellen beider Zellinien (n = 129) ließen eine einstrahlige Äquatorialplatte mit zwei und mehr Spindelpolen erkennen. 39.5 % dieser Mitosen waren dreistrahlig, 9.3 % vierstrahlig. Mit ansteigender Strahlenzahl der Metaphasenfigur fiel in den polyploiden euploiden Zellen die relative Mitosenhäufigkeit fast linear ab: 56.8 % der Metaphasen waren einstrahlig, 34.1 % dreistrahlig und nur 9.1 % vier- (und mehr-) strahlig. Im Gegensatz dazu waren in der aneuploiden Kultur 39.0 % der Metaphasen einstrahlig, 51.2 % dreistrahlig und 9.8 % vierstrahlig.

d2) Polyploide Mitosen einkerniger und zweikerniger Zellen

Die Mitosen polyploider einkerniger Zellen der euploiden Kultur bildeten in 66.7 % einstrahlige, in 19.0 % dreistrahlige und in 14.3 % vierstrahlige Metaphasenfiguren (Tabelle 12 b). Poly-

ploide Mitosen einkerniger aneuploider Zellen waren ebenfalls in der Mehrzahl der Fälle (55.6 %) in der Gruppe der einstrahligen Metaphasen zu finden. In der Gruppe der dreistrahligen Metaphasen war der Anteil der aneuploiden Mitosen polyploider einkerniger Zellen (33.3 %) wesentlich größer als der der euploiden (19.0 %). Die euploiden polyploiden zweikernigen Zellen (Tabelle 12 c) bildeten in 52.2 % einstrahlige, in 40.3 % dreistrahlige und nur in 7.5 % vierstrahlige Metaphasenfiguren; auch hier war also der Prozentsatz der beobachteten Mitosen um so kleiner, je mehr Teil-Äquatorialplatten (= Strahlen) die für die Klasseneinteilung gewählte Metaphasenfigur aufwies. In der Gruppe der aneuploiden polyploiden Mitosen zweikerniger Zellen fand sich jedoch eine andere Häufigkeitsverteilung: Hier überwog eindeutig der Anteil der dreistrahligen Metaphasen (62.1 %).

d3) Polyploide Mitosen beider Kulturen

Einkernige polyploide Zellen (Tabelle 12 d) bildeten in 63.3 % einstrahlige, in 23.3 % dreistrahlige und in 13.3 % vierstrahlige Metaphasen. Diese nach rechts (also in Richtung mehrstrahliger Metaphasenfiguren) abfallende Häufigkeitsverteilung fand sich bei den Mitosen polyploider zweikerniger Zellen nicht: Hier fand sich ein Häufigkeitsmaximum in der Gruppe der dreistrahligen Metaphasen (46.9 %).

Die in Tabelle 12 a-d gewählte Einteilung macht deutlich, daß die relative Mitosehäufigkeit in den meisten Zellkollektiven um so geringer war, je mehr Strahlen die Metaphasenfigur der jeweiligen Einteilungsklasse aufwies. Diese nach recht abfallende Kurve der Häufigkeitsverteilung war in drei Zellkollektiven jedoch nicht vorhanden: In polyploiden aneuploiden, polyploiden aneuploiden zweikernigen und polyploiden zweikernigen Zellen. Hier überwog jeweils der Anteil der dreistrahligen Metaphasefiguren.
Aus Tabelle 12 a-d geht weiterhin hervor, daß bei einkernigen polyploiden und bei euploiden polyploiden Zellen die Kurve der Häufigkeitsverteilung steiler von links nach rechts abfällt als

bei zweikernigen polyploiden und aneuploiden polyploiden Zellen; z.B. Tabelle 12: b)1. und c)1.
Dies bedeutet, daß der Prozentsatz mehrstrahliger Mitosen um so größer war, je mehr Kerne die Zelle hatte bzw. je ungeordneter die Zusammensetzung der Chromosomensätze war. Zweikernigkeit und aneuploide Chromosomensätze begünstigen demnach das Auftreten mehrstrahliger Metaphasenfiguren.
Andererseits zeigt Tabelle 12 aber auch, daß der Prozentsatz der einstrahligen Metaphasen (Ordnungsprinzip der Einstrahligkeit !) in allen Zellkollektiven hoch war und nur in zwei Kollektiven unter 40.0 % lag. Dies wird später (Kapitel IV.7i) dahingehend interpretiert, daß selbst in aneuploiden und in mehrkernigen Zellen, in denen eine sehr hohe Anzahl multipolarer, mehrstrahliger Mitosen erwartet wird, die Einstrahligkeit durch ein noch hypothetisches, intrazellulares Spindelorganisationssystem induziert wird. Dieses von Centriolen und anderen Mikrotubuli-organisierenden Zentren unabhängige Ordnungssystem würde somit ein zu starkes Anwachsen der Häufigkeit mehrstrahliger Metaphasen verhindern, da es nur zur Bildung einstrahliger (zwei- und mehrpoliger), nicht aber mehrstrahliger Mitosen befähigt ist.

III.11 e) Ploidie und Metaphasenfigur

In Tabelle 13 wurden die Metaphasen polyploider Zellen beider Kulturen (n = 129) nach Ploidiestufen getrennt aufgeführt.
Die Ploidie wurde rechnerisch aus der Gesamtploidie der Tochterkerne bestimmt, da eine Ploidiebestimmung während der Lebendbeobachtung nicht möglich war. Hypo- und hyperploide Werte wurden jeweils der nächstliegenden Ploidiestufe zugeordnet.
Unter den triploiden und tetraploiden Mitosen waren die einstrahligen Metaphasen als häufigste Mitosefiguren in 45.4 % bzw. 63.5 % anzutreffen. In 5n- (58.3 %), 6n- (66.7 %) und hochpolyploiden Zellen dagegen war die dreistrahlige Metaphase die häufigste Mitosefigur. Vierstrahlige Metaphasen waren in allen Ploidieklassen seltener zu finden als drei- und einstrahlige Metaphasen; vierstrahlige 6n-Mitosen wurden nicht

beobachtet. Der Anteil einstrahliger Metaphasenfiguren lag in sämtlichen Ploidieklassen über 28.0 %. Er war am höchsten in tetraploiden Mitosen (63.5 %) und nahm mit zunehmender Ploidie ab, so daß hochpolyploide Mitosen die niedrigste Quote einstrahliger Metaphasen zeigten (28.6 %). Gleichzeitig fand sich in der Gruppe der hochpolyploiden Mitosen die höchste Quote vierstrahliger Metaphasen (21.4 %).

Tabelle 13: Häufigkeiten der drei Metaphasenfigurtypen in Zellen unterschiedlicher Ploidieklassen. Angaben in Prozent

Ploidie der Metaphase	FORM DER METAPHASENFIGUR			Zahl der Metaphasen
	/	Y	+	
3 n	45.4	36.4	18.2	11
4 n	63.5	28.4	8.1	74
5 n	33.3	58.3	8.3	12
6 n	33.3	66.7	-	18
>6 n	28.6	50.0	21.4	14

III.12. Metaphasenfiguren

Im Gegensatz zu den von einigen Autoren (HENEEN et al., 1970; PERA, 1975) untersuchten multipolaren Metaphasen waren die in der Lebendbeobachtung verfolgten mehrstrahligen und mehrpoligen Mitosefiguren relativ ungenau in ihren Konturen und Ausdehnungen zu erkennen, so daß präzise Aussagen über ihre Form und die Lage der Pole aufgrund der Lebendbeobachtung nicht gemacht werden können. Durch indirekte Bestimmung von Anzahl und Lage der Spindelpole (HENEEN et al., 1970) in Kombination mit den in mehreren optischen Ebenen angefertigten Photographien ist es jedoch möglich, Form und Verhalten der Metaphasenfigur in den meisten beobachteten Mitosen trotz optisch störender Fetttröpfchen und anderer Zellorganellen (vgl. WENDT, 1959: Abb.1,S.678) zu beurteilen, wobei allerdings das Erscheinungsbild vielstrahliger Mitosen möglicherweise fehlgedeutet werden kann. Für eine genauere Analyse gefärbter multipolarer Mitosen empfehlen sich die von HENEEN et al. (1970) und PERA (1975) verwendeten Färbemethoden bzw. Gewebekulturzellen, die die für Microtus-Fibroblasten typischen Nachteile (z.B. mitotische Kugelform, stark lichtbrechende Zellorganellen etc.) nicht besitzen.
Die in der Lebendbeobachtung unterscheidbaren Metaphasekonfigurationen sind in den Abbildungen 8 und 10 - 13 schematisch dargestellt. Der relative DNS-Gehalt der Tochterkerne ist an der Stelle der zugehörigen Polregion aufgeführt. Bis auf wenige Ausnahmen lagen alle beobachteten Metaphasenfiguren in einer optischen Ebene. Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu der von HENEEN et al. (1970) an fixierten und gefärbten Metaphasen gefundenen dreidimensionalen Anordnung mehrstrahliger Mitosefigur-Chromosomen. Eine durch die Technik der Lebendbeobachtung im Phasenkontrast bedingte Täuschung über die tatsächliche Ausdehnung der Metaphasenfiguren sollte deshalb bei der Erörterung der verschiedenen Mitosefiguren stets in Erwägung gezogen werden. Während die Metaphasenfiguren fast ausschließlich in einer einzigen, sehr flachen optischen Ebene gelegen waren, fand sich bei mehrstrahligen Figuren im Prometaphasestadium eine Anordnung der Chromosomen in mehreren, teilweise weit voneinander entfernten

optischen Ebenen, so daß der Eindruck entstand, daß die kugelförmige mitotische Zelle vollständig von Chromosomen durchsetzt sei. So ähnelte beispielsweise eine dreistrahlige Mitosefigur im Prometaphasestadium einer dreiblättrigen Schiffschraube, wobei die Blätter der Schraube den schräg stehenden Teil-Äquatorialplatten entsprachen; die schräg stehenden Äquatorialplatten reichten fast vom oberen bis zum unteren Pol der tropfenförmigen Zelle.
Der auch im folgenden verwendete Ausdruck 'optische Ebene' kam dadurch zustande, daß bei der Lebendbeobachtung mitotischer, kugelförmiger Zellen mit der Mikrometerschraube 5 - 15 verschiedene Ebenen (je nach Zelldicke) eingestellt werden konnten, die alle ein individuelles Bild der Chromosomenanordnung vermittelten. Diese Ebenen wurden photographiert und die Umrisse der Chromosomen (-gruppen) schließlich auf Pergamentpapier mit spitzem Bleistift übertragen. Die in unterschiedlichen Farben kolorierten Chromosomensilhouetten vermittelten nun, nachdem die derart präparierten Pergamentpapiere übereinandergelegt und gegen eine helle Lampe gehalten worden waren, ein (ungefähres) Bild von der tatsächlichen dreidimensionalen Ausdehnung der Chromosomengruppen während sämtlicher Mitosestadien.

III.12 a) Parallelmitosen

Einstrahlige Metaphasenfiguren fanden sich auch in zweikernigen polyploiden Zellen nicht selten (Tabelle 12 c). Besonders häufig waren einstrahlige Metaphasen, die zur Entstehung von zwei polyploiden Tochterkernen führten. Da in polyploiden Mitosen die Fusion von Telophasenteilen aufgrund der engen räumlichen Beziehung von Nachbarpolen denkbar ist (Kapitel III.10. und IV.7.), sollte auch im Fall einer scheinbar bipolaren einstrahligen Metaphasenfigur eine Parallelmitose mit nachfolgender Kernfusion (wie in Abbildung 7 b dargestellt) nicht ausgeschlossen werden. Die in der Lebendbeobachtung verfolgten Parallelmitosen (Abbildung 8) hatten drei oder vier Spindelpole. Parallelmitosen mit mehr als vier Spindelpolen konnten nicht eindeutig erkannt werden, da diese Mitosen von der Fusion mehrerer Tochter-Telophasenteile

begleitet zu sein scheinen, so daß die Methode der indirekten Polzahlbestimmung (Kapitel III.20.) zu falschen Aussagen über die Anzahl der Spindelpole führt. Die von anderen Autoren (JACOBY, 1940; GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 1966; GONZALEZ, 1967; GIMENEZ-MARTIN et al., 1968; PERA und SCHWARZACHER, 1968; PERA, 1975) in Tier- und Pflanzenzellen beschriebenen Doppelmitosen (zwei nebeneinander liegende, jedoch nicht miteinander in Verbindung stehende bipolare Metaphasenfiguren) und Bimitosen (hintereinander angeordnete, einstrahlige bipolare Mitosen) konnten in den untersuchten Zellen nicht beobachtet werden. In einigen Fällen (Tabelle 45) führten Parallelmitosen zur Entstehung haploider Tochterkerne. Aus der in Abbildung 8 g schematisch wiedergegebenen Parallelmitose gingen vier haploide Tochterkerne hervor. Die in Abbildung 8 e dargestellte Parallelmitose führte u.a. zur Entstehung von zwei aneuploiden Tochterkernen; hierbei handelte es sich möglicherweise um eine ursprünglich einheitliche Chromosomengruppe, die in der Telophase geteilt wurde und nun nicht von einer sondern von zwei separaten Kernmembranen umgeben wurde, so daß schließlich zwei Tochterkerne resultierten.

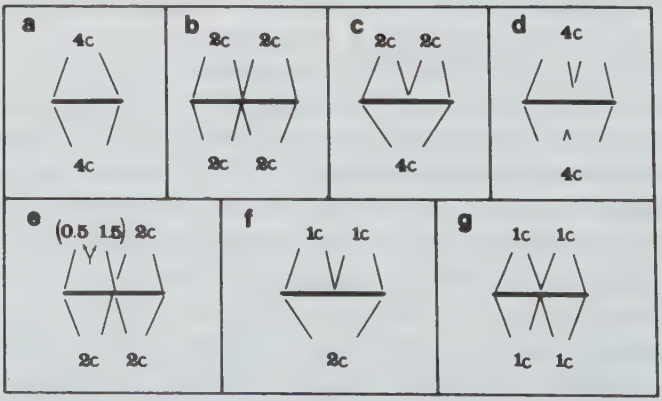


Abbildung 8 a-g: Schematische Darstellung der in der Lebendbeobachtung verfolgten unterschiedlichen einstrahligen Metaphasenfigurtypen (vgl. Tabelle 1
b - g: Parallelmitosen; d: Kernfusionen (2c + 2

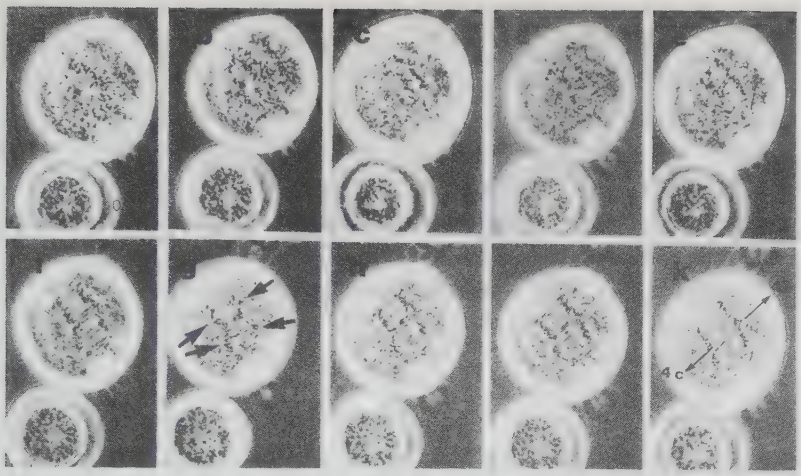


Abbildung 9 a-k: Anaphase einer zweikernigen tetraploiden Zelle. Die im Zeitraum von fünf Minuten angefertigten Photographien verdeutlichen die Schwierigkeit, im Phasenkontrast die Zahl der Spindelpole einer einstrahligen Teilungsfigur zu bestimmen: Während in Abb. a-f die Spindelfigur bipolar erscheint, sind in Abb. g-i möglicherweise vier Polregionen vorhanden (Pfeile); jedoch gehen aus dieser Zellteilung nur zwei tetraploide Tochterkerne hervor.
(Zelle Nr. 147)

III.12 b) V-Mitosen

Dreistrahlige Metaphasenfiguren sind größtenteils V-, Y- oder T-förmig, wobei die Übergänge von der einen in die andere Form fließend zu sein scheinen (Abbildung 10 h-l). In fixierten und gefärbten Präparaten läßt sich leicht erkennen, daß dreistrahlige Metaphasenfiguren bezüglich der Form und Lage ihrer Teil-Äquatorialplatten einen großen Variantenreichtum aufweisen; eine strikte Trennung in V- und Y-förmige dreistrahlige Mitosen ist deshalb

nicht möglich. Trotzdem sollen hier die V-förmigen zwei- und häufig auch dreistrahligen Mitosen (Abbildung 10 i) als separate Gruppe ("V-Mitosen") behandelt werden, da sie in der Lebendbeobachtung nicht selten als in der Mitte eingeknickte einstrahlige Metaphasenfiguren identifiziert werden konnten (Kapitel III.13e), wogegen die übrigen dreistrahligen Mitosefiguren häufig einen anderen Entstehungsmechanismus erkennen ließen (vgl. Abb. 10 m/n). Aber auch in der Lebendbeobachtung fanden sich Zellen, in denen der Übergang von der V-Mitose zur Y-förmigen dreistrahligen Mitose fließend erfolgte.

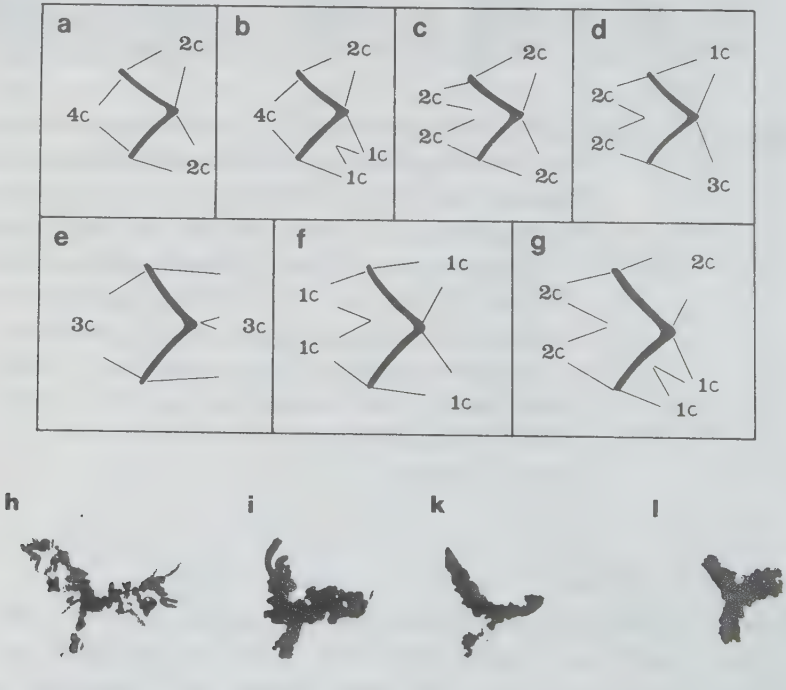


Abbildung 10: Schematische Darstellung der in der Lebendbeobachtung verfolgten V-Mitosen (a-g), Kernfusion (e). V-Y-förmige Metaphasenfiguren (h-l), Feulgen- (h,k und l) und Giemsa-Färbung (i).

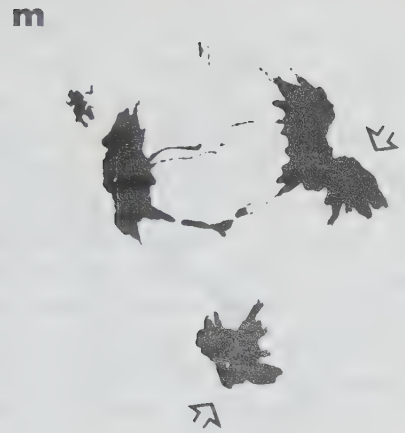


Abbildung 10 m: Multipolare Ana-Telophase (Giemsa-Färbung). Pfeile kennzeichnen Schwesterchromosomengruppen. Beachte die späte Schwesterchromatidentrennung ("lagging") der Geschlechtschromosomen.

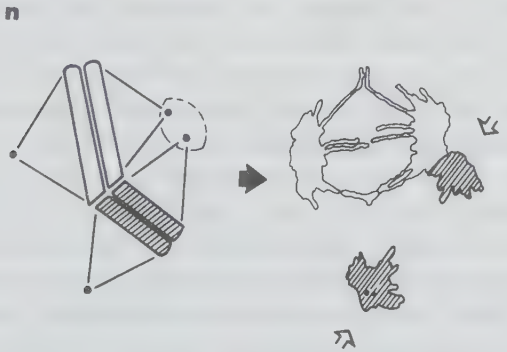


Abbildung 10 n: Modell zu m: Die Ana-Telophase ging möglicherweise aus einer einstrahligen Parallelmitose bzw. Doppelmitose oder aus einer 'V-Mitose' hervor (Abb.) - nicht jedoch aus einer dreistrahligen Metaphase.
Beachte Fusion von Telophaseteilen ('Kernfusion') rechts.

V-Mitosen erscheinen als in der Mitte eingeknickte einstrahlige Parallelmitosen; die Größe des von den zwei Strahlen gebildeten Winkels ist variabel. Auffällig ist das Verhältnis von relativem DNS-Gehalt der Tochterkerne zur Lage und Anzahl der Spindelpole. Es ist leicht vorstellbar, daß im Fall der in Abbildung 10 a und b schematisch dargestellten Mitosen die der konkaven Figurseite gegenüberliegende Polregion von zwei oder mehr nahe beieinanderliegenden Spindelpolen gebildet wird, deren Telophasenteile jeweils zu einem tetraploiden Zellkern fusionieren. Andererseits können diese Pole auch so weit getrennt sein, daß, wie in Abbildung 10 c, nicht ein tetraploider Kern sondern stattdessen zwei diploider Kerne entstehen. In einer V-Mitose (Abbildung 10 e) konnte die Fusion von zwei benachbarten Telophasenteilen eindeutig beobachtet werden.

III.12 c) Dreistrahlige Mitosen

Wie die Abbildungen 10 h-l zeigen, kann der Übergang von der V-Mitose zur dreistrahligen Y-förmigen Mitose in morphologischer Sicht durchaus fließend sein. Autoradiographische Untersuchungen drei- und vierstrahliger Mitosen (PERA, 1970; HENEEN, 1971) lassen jedoch vermuten, daß in den aus einstrahligen Parallelmitosen hervorgegangenen V-Mitosen (vgl. Abbildung 25) die Anordnung der Chromosomensätze eine ganz andere ist als in dreistrahligen Mitosen, die (wie Abbildung 11 f) zu einer Aufteilung des chromosomalen Materials beispielsweise im Verhältnis 3 : 2 : 3 führen. Diese für die Diskussion der somatischen Reduktion und Segregation wichtige Beobachtung läßt eine Unterteilung in V- und Y-förmige Mitosen dann sinnvoll erscheinen, wenn der Entstehungsmechanismus der Metaphasenfigur (z.B. entweder durch Einknicken einer einstrahligen Äquatorialplatte oder durch direktes Konfluieren der Prometaphasechromosomen zu einer V- bzw. Y-förmigen Figur) in der Lebendbeobachtung verfolgt werden konnte.
In den Abbildungen 11 a-k wurde auf eine maßstabsgetreue Wiedergabe der Strahlenlänge verzichtet, da diese nur in wenigen Fällen exakt meßbar war. Die Beobachtung dreistrahliger Mitosen zeigte jedoch deutlich, daß die einzelnen Strahlen einer Mitose unterschiedlich lang sein können.

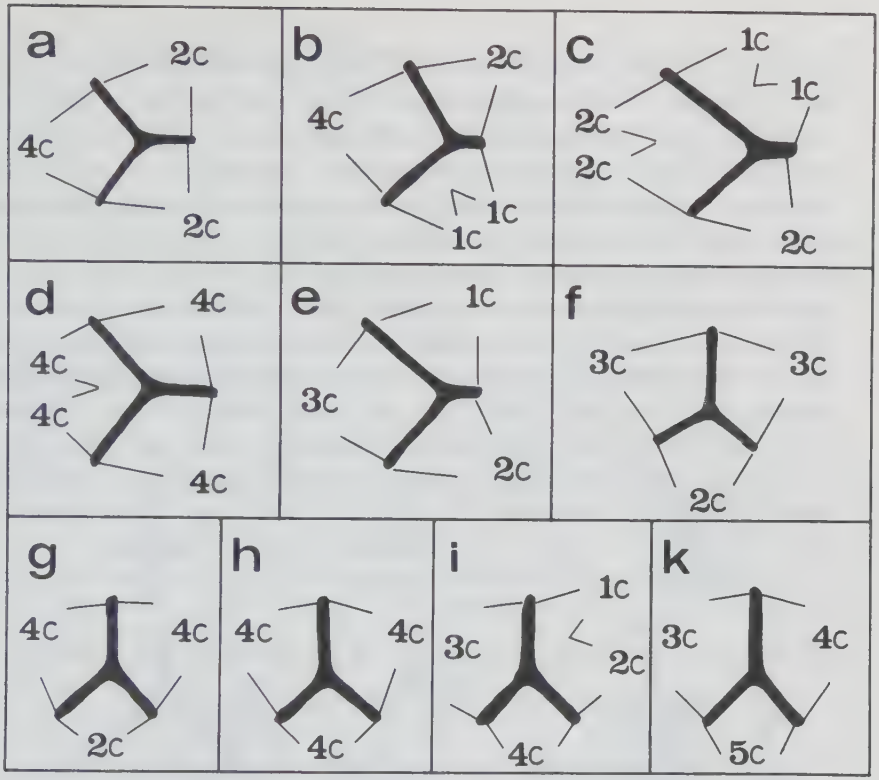


Abbildung 11 a-k: Schematische Darstellung dreistrahliger, V-Y-förmiger Metaphasenfiguren aus der Lebendbeobachtung.
Der Übergang von der fast V-förmigen, in den meisten Fällen durch Einknicken einer einstrahligen Metaphase entstandenen Figur (a-e) zur typischen dreistrahligen Y-Form (f-k) ist fließend, da Strahlenlänge und Winkelgröße beträchtlichen Schwankungen unterliegen können.

III.12 d) Pseudotripolare und pseudoquadripolare Mitosen

Die von PERA (1975) beschriebenen pseudotripolaren und pseudoquadripolaren Metaphasenfiguren konnten auch in der Lebendbeobachtung verfolgt werden (Abbildung 12 a-e).
Da die Zahl der Strahlen einer multipolaren Mitose in den meisten Fällen mit der Zahl der Spindelpole identisch ist (Kapitel III.3.), werden Metaphasenfiguren mit weniger Polen als Strahlen als pseudo-n-polare Mitosen bezeichnet (PERA, 1975), wobei n die Anzahl der Strahlen (!) ausdrückt. Der Begriff der pseudo-n-polaren Mitose wird hier jedoch auch für diejenigen Mitosefiguren verwendet, in denen die Anzahl der Pole und Strahlen zwar identisch sein kann (z.B. Abbildung 12 b), jedoch stets die gewöhnlich in dem von zwei Strahlen gebildeten Winkel vorhandene Polregion fehlt (Pfeile in Abbildung 12).

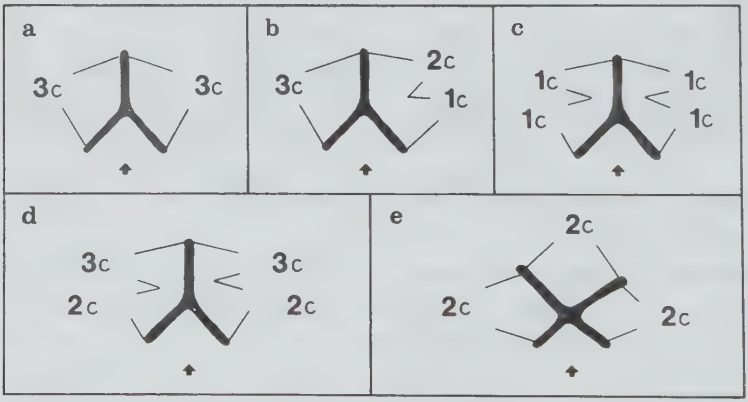


Abbildung 12 a-e: Schematische Darstellung pseudotripolarer (a-d) und pseudoquadripolarer Mitosen (e) aus der Lebendbeobachtung.
Pfeile kennzeichnen Regionen, in denen in der Regel Spindelpole vorhanden sind, hier jedoch fehlen.

III.12 e) Vierstrahlige Mitosen

Vierstrahlige Mitosen stellen eine zwar selten beobachtete, jedoch sehr charakteristische Form der multipolaren Mitose dar (Abbildung 13 a und b). Die in Tabelle 40 b aufgeführten vierstrahligen Mitosen mit mehr als vier Tochterkernen konnten nicht immer eindeutig identifiziert werden; es ist somit denkbar, daß es sich bei diesen sogenannten vierstrahligen Metaphasen um Mitosen mit einem viel komplexeren Strahlengefüge als hier dargestellt handelte (vgl. Abbildungen vielstrahliger multipolarer Mitosen bei HENEEN et al., 1970; PETERSON und BERNS, 1979).

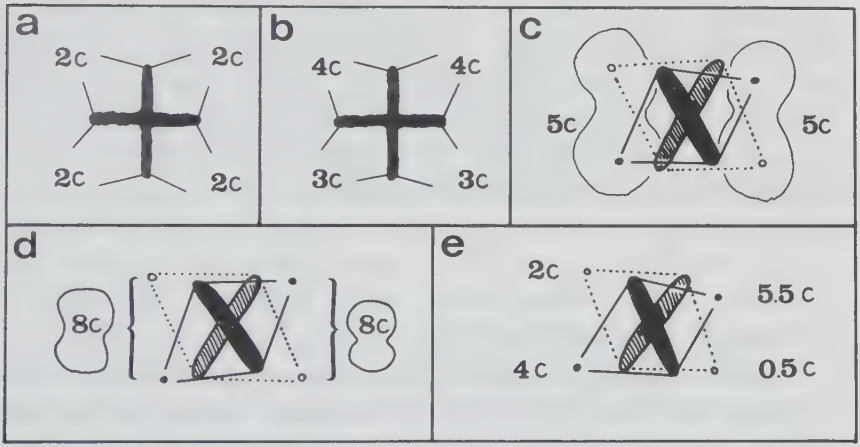


Abbildung 13 a-e: Schematische Darstellung vierstrahliger (a,b) und doppelt-einstrahliger Mitosen mit je zwei übereinanderliegenden separaten bipolaren Spindelfiguren (c-e), sogenannte Etagenmitosen. Nach Lebendbeobachtungen gezeichnet.

III.12 f) Etagenmitosen

In drei Zellen konnten je zwei übereinanderliegende separate bipolare Spindelfiguren beobachtet werden, deren Längsachsen ungefähr senkrecht aufeinander standen (Abbildung 13 c-e).

In der Telophase verschmolzen je zwei benachbarte Nicht-Schwester-Telophasenteile miteinander (Markierungen in Abbildungen c und d), so daß aus der Etagenmitose schließlich nur zwei Tochterkerne mit Chromosomen aus der 'unteren' und aus der 'oberen' Metaphasenfigur hervorgingen. Dieser Fusionsvorgang war in der in Abbildung 13 e dargestellten Mitose entweder gestört oder eine Fusion blieb hier von Anfang an überhaupt aus.
Der Name Etagenmitose wurde für derartige multipolare Mitosen nur deshalb gewählt, um diese Mitosen mit übereinanderliegenden Spindelfiguren von Parallelmitosen und Bimitosen abgrenzen zu können, in denen die bipolaren Teil-Figuren entweder parallel nebeneinander oder hintereinander angeordnet sind. Von den Doppelmitosen (PERA, 1975) unterscheiden sich die Etagenmitosen ebenfalls durch die Lage der beiden Spindelfiguren: In Doppelmitosen liegen die beiden separaten bipolaren Spindelfiguren mit leicht gegeneinander verschobenen Äquatorialplatten stets nebeneinander - jedoch nie übereinander.

III.13. Chromosomenbewegungen

Der überwiegende Teil unseres gegenwärtigen Wissens über Entstehung und Funktion des Spindelapparates beruht auf Untersuchungen, die an Zellen von Pflanzen, Amphibien und vielen anderen Nicht-Säugern in vivo und in vitro durchgeführt wurden (Zusammenfassung bei LUYKX, 1970; BAJER und MOLE-BAJER, 1972). Die im Vergleich dazu spärliche Information über das Verhalten des mitotischen Apparates in Säugerzellen beruht hauptsächlich auf Untersuchungen an fixierten Zellen; die Technik der Lebendbeobachtung von Säugerzellen war in der Regel jedoch zu mangelhaft, um für detaillierte Untersuchungen des mitotischen Apparates verwendet werden zu können. Erst in den letzten Jahren konnten aufgrund der Verwendung geeigneter Zellstämme durch Kombination von Lebendbeobachtungen mit licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungsmethoden genauere Informationen über den mitotischen

Apparat diploider, polyploider und maligner Säugerzellen gewonnen werden (z.B. RATTNER und BERNS, 1976; BERNS et al., 1977; PETERSON und BERNS, 1979).
Mit Ausnahme z.B. der flachen Rattenkänguruh-Zellen (HENEEN, 1968) haben die meisten in der Gewebekultur gewachsenen Säugerzellen mehrere für die Lebendbeobachtung mitotischer Vorgänge äußerst ungünstige Eigenschaften, die teilweise durch die mit der Lebendbeobachtung verknüpften Techniken der Zellmanipulation noch verstärkt werden. Die in dieser Arbeit verwendeten Lungenfibroblasten weiblicher Erdmäuse (Microtus agrestis) erlaubten nur in wenigen Fällen einen genauen Einblick in das Innere der mitotischen Zelle. In der Regel brachte sich die zunächst großflächige Fibroblastenzelle spätestens am Ende der Prophase in eine kugel- bis tropfenförmige Form, die die Beobachtung des Verhaltens einzelner Chromosomen und der Entstehung der Metaphasenfigur fast unmöglich machte. Die Überlagerung durch Zellorganellen und Fetttröpfchen sowie die starke Lichtbrechung der abgerundeten Zelle verhinderten in den meisten Fällen ein ähnlich deutliches Mitosebild der Chromosomen wie es in fixierten und gefärbten Präparaten gefunden werden kann. Zudem wird die Beobachtung durch die dreidimensionale Lage des mitotischen Apparates in den kugelförmigen Zellen erschwert.

Andererseits gestattet gerade die genaue Beobachtung des dreidimensionalen Mitosegeschehens interessante Einblicke in das Verhalten des Spindelapparates und der einzelnen Chromosomen.

Von den vielen ganz oder nur teilweise beobachteten Mitosen ein- und mehrkerniger Zellen wurden hier nur diejenigen ausgewählt, die eine den Verhältnissen entsprechende genaue Beobachtung des Mitoseablaufs erlaubten. Da während der Lebendbeobachtung Photos in mehreren optischen Ebenen der mitotischen Zelle angefertigt wurden, mußte bis auf wenige Ausnahmen aus Übersichtsgründen eine schematische Darstellungsweise der Chromosomenbewegungen mitotischer Zellen gewählt werden; in einigen Fällen wurde der schematischen Darstellung die entsprechende Photoserie aus der Lebendbeobachtung noch hinzugefügt.
Diese Darstellungen sollen einen Überblick über die vielen möglichen Varianten des Mitosegeschehens in zweikernigen und poly-

ploiden einkernigen Zellen geben. Sie sollen jedoch nicht als genaue Analysen des Verhaltens der einzelnen Chromosomen mitotischer Säugerzellen gewertet werden, für dessen Beobachtung die Lungenfibroblasten der Erdmaus nicht geeignet sind.

In mehr als einhundert einkernigen diploiden Zellen konnte beobachtet werden, daß der Bildungsvorgang bipolarer Metaphasenfiguren in allen Zellen derselbe war: Die in der prometaphasischen Chromosomengruppe verstreut liegenden Chromosomen wurden innerhalb weniger Minuten zu einer einstrahligen Äquatorialplatte angeordnet, die sich in der Anaphase in zwei gleich große Chromatidengruppen teilte. In ungefähr einem Drittel der beobachteten einkernigen diploiden Zellen wurden die Chromosomen vor ihrer endgültigen Einordnung in die einstrahlige Metaphasenplatte zu einer kranzförmigen Hohlspindel gruppiert. Aus diesem Übergangsstadium der Hohlspindelkonfiguration gruppierten sich die Chromosomen schon nach wenigen Minuten zu einer endgültigen, hier geradlinigen Metaphasenfigur.

Wie die Lebendbeobachtungen zeigten, existierte in zweikernigen und einkernigen polyploiden Zellen ein weitaus variantenreicheres Bild der Entstehung des mitotischen Apparates als in diploiden einkernigen Zellen.
Die in den folgenden Abbildungen schematisiert dargestellten Mitosen zeigen zum Teil Spindelfasern und -pole. Tatsächlich war in der Lebendbeobachtung aber weder das eine noch das andere zu erkennen. In der Lebendbeobachtung zeigt das Phasenkontrastbild statt der Spindeln nur helle, von Zellorganellenfreie, homogen erscheinende Regionen, die als Kinoplasma (STRASBURGER, 1880) oder Archiplasma (BOVERI, 1888, 1890) bezeichnet werden. Aus den größtenteils sehr gut zu erkennenden Archiplasmabezirken und aus der Zahl und Lage der Tochterchromosomengruppen bzw. -kerne wurden für die schematischen Zeichnungen Lage und Form der Spindeln und ihrer Pole rekonstruiert.

III.13 a) Entstehung einstrahliger Metaphasenfiguren

In ein- und mehrkernigen polyploiden Zellen konnten unterschiedliche Entstehungsvorgänge einstrahliger Metaphasenfiguren beobachtet werden. Die im folgenden verwendeten Kürzel für unterschiedliche Entstehungsvorgänge (z.B. HS konfl. 1str bip.Mit.) beziehen sich auf die in Tabelle 1 definierten Abkürzungen.

a1) Direkt - 1str bip.Mit.

In vielen zweikernigen, aber auch in polyploiden einkernigen Zellen fand sich derselbe Entstehungsmechanismus mitotischer Teilungsfiguren wie in der Mehrzahl der diploiden einkernigen Zellen: Die in einer gemeinsamen prometaphasischen Gruppierung gelegenen Chromosomen ordneten sich zu einer schmalen, streifenförmigen Äquatorialplatte an. Bei dieser Metaphasenfigur handelt es sich nicht um die Seitenansicht einer flachen (zweidimensionalen) Platte sondern - wie die Lebendbeobachtung in mehreren optischen Ebenen ergab - um die zu einem langgestreckten geradlinigen Band aufgereihten Chromosomen. Statt Äquatorial-Platte wäre hier der Ausdruck Äquatorial-Balken zutreffender.

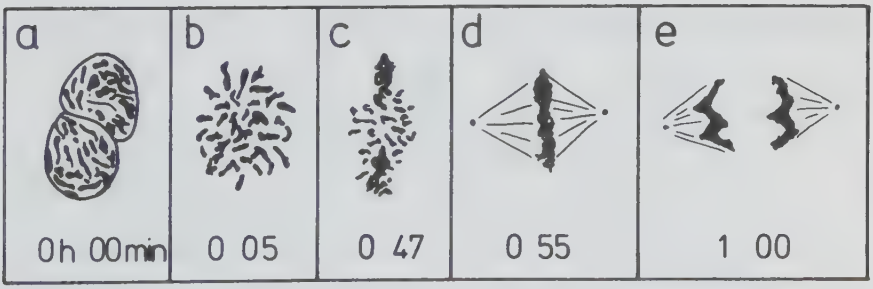


Abbildung 14: Schematische Darstellung der Entstehung einer einstrahligen Metaphasenfigur einer zweikernigen Zelle (Tabelle 1: zweikern.Zelle Nr. 53)
a) Prophase; b,c) Prometaphase; d) Metaphase; e) Anaphase.

Charakteristisch für den in Abbildung 14 wiedergegebenen Entstehungsmechanismus einstrahliger bipolarer Spindelfiguren ist das sofortige Konfluieren der Prometaphase-Chromosomen zur definitiven Spindelfigur. Spät-prometaphasische Umbauvorgänge der Teilungsfigur, die später erläutert werden, fanden sich hier nicht. Dieser Entstehungsmechanismus wurde in den in Tabelle 14 aufgeführten Zellen beobachtet.

Tabelle 14: Liste der ein- und zweikernigen Zellen, die den in Abbildung 14 wiedergegebenen Entstehungsmechanismus einstrahliger bipolarer Spindelfiguren in der Lebendbeobachtung erkennen ließen.

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	1	4 n	8
	2	2 n	2
	2	4 n	11
	2	8 n	1
	2	unbekannt	6
Aneuploide Kultur	1	3 n	1
	1	6 n	3
	1	unbekannt	2
	2	4 n	2
	2	5 n	1

a2) HS konfl - 1str bip.Mit.

Einen etwas modifizierten Entstehungsmechanismus einstrahliger bipolarer Metaphasenfiguren zeigt Abbildung 15. Auch die in der Photoserie der Abbildung 16 dargestellte Mitose einer dreikernigen Zelle zeigt im wesentlichen den gleichen Vorgang; jedoch ist hier die Form der Hohlspindel eine (durch die erhöhte Zahl der Zellkerne bedingt?) andere als sie sich in der Regel in den Mitosen ein- und zweikerniger Zellen fand.

In der späten Prometaphase bzw. der frühen Metaphase entstand durch Konfluieren der Chromosomen eine kranzförmige Figur, die sich in einigen Fällen (zweikerniger Zellen) aus zwei abgrenzbaren Chromosomengruppen zusammensetzte. Beim Durchfokussieren erinnerte die Gestalt dieser sogenannten Hohlspindel in einigen zweikernigen Zellen an die Aufsicht auf einen Hohlzylinder, der durch Verjüngung an den offenen Enden die Form eines Doppelkegels zu haben scheint. In anderen Zellen wiederum imponierte die Hohlspindel im durch Fokussieren entstandenen dreidimensionalen Bild nicht als Kranz sondern vielmehr als eine nach unten offene, aus Chromosomen gebildete Kuppel bzw. Glocke.
Derartige 'Hohlspindel'-Figuren wurden in Mitosen einkerniger diploider Zellen häufig beobachtet, während sie in Mitosen zweikerniger Zellen seltener anzutreffen waren.
Aus der ringförmigen, in einigen Fällen auch glockenförmigen Anordnung wurden die Chromosomen schließlich ins Innere der entsprechenden Figur gezogen und bildeten schließlich eine gestreckte bipolare Metaphasenfigur, die sich in der Anaphase in zwei gleich große Chromatidengruppen teilte.

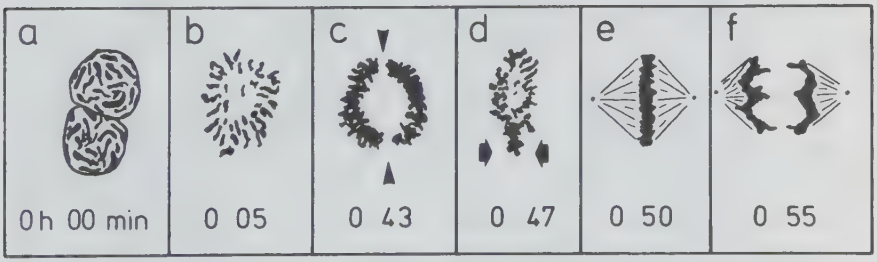


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Entstehung einer einstrahligen bipolaren Metaphasenfigur einer zweikernigen Zelle (Tabelle 1: zweikern.Zelle Nr. 77)
a) Prophase mit fehlendem internukleären Spalt;
b) prometaphasische Gruppierung; c) 'Hohlspindel', Pfeile kennzeichnen Spalt zwischen Chromosomengruppen;
d) Konfluieren zum Zentrum; e,f) Meta- und Anaphase.

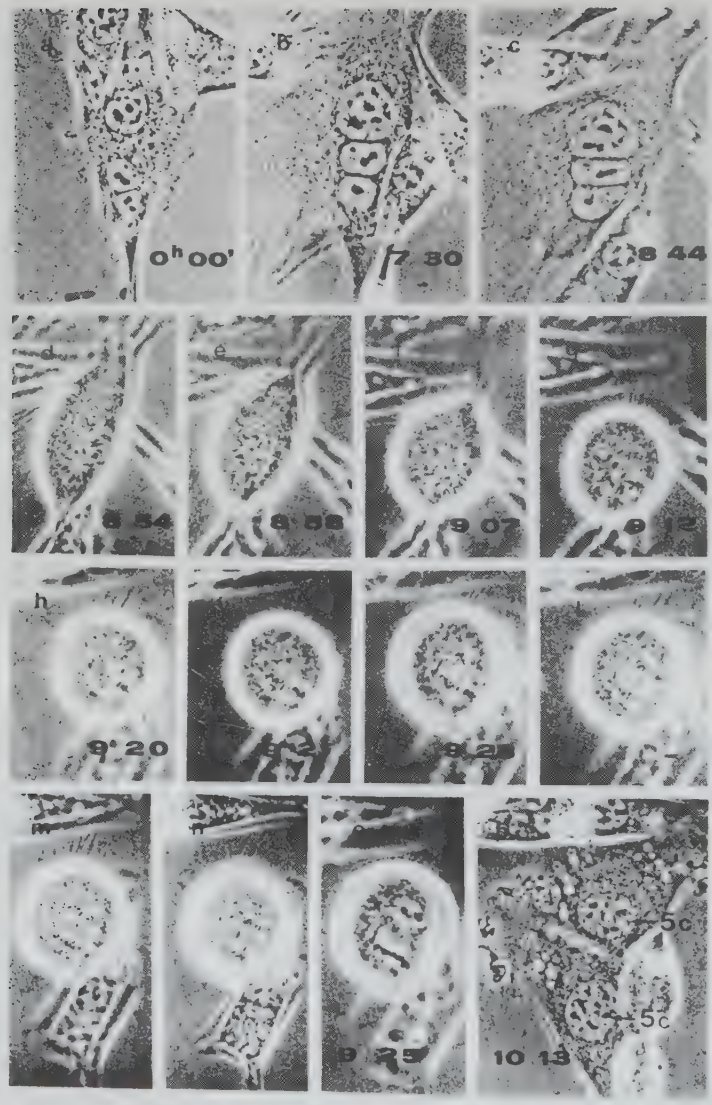


Abbildung 16: Mitose einer dreikernigen 5n-Zelle. (Tab.1: Nr.49)
a,b) Interphase; c) Prophase; d-g) Prometaphase, Stadium der Hohlspindelentwicklung; h,i) Metaphase; k-o) Anaphase; p) zwei Tochterkerne in Interphase.
Erläuterungen: siehe Text (vgl. Abb.51 "A")

Die in Abbildung 16 dargestellte Mitose einer dreikernigen Zelle (deren aus dem relativen DNS-Gehalt der Tochterkerne errechneter Ploidiegrad 5n ist) zeigt mehrere, für Mitosen vielkerniger Zellen typische Mitoseereignisse.
Die in der Interphase noch durch einen breiten internukleären Spalt getrennten Zellkerne (a) bewegen sich noch vor der Prophase aufeinanderzu, so daß ein internukleärer Cytoplasmabezirk schließlich nicht mehr zu erkennen ist (b). Bis zum Beginn der Prophase (c) haben sich die drei Zellkerne so eng nebeneinandergelegt, daß zumindest der mittlere Kern von seinen beiden Nachbarn komprimiert zu werden scheint. In der Prometaphase konfluieren sämtliche Chromosomen zu einer (e) oder möglicherweise auch mehreren (d?) hohlspindelähnlichen Ring-Figuren (f). Aus der Peripherie werden die Chromosomen schließlich ins Innere der kreisförmigen Prometaphasenfigur bewegt (g), um hier zu erst eine V-förmig gebogene (h), später jedoch gestreckte Metaphasenfigur zu bilden (i). Die Zelle hat inzwischen Kugel- bis Tropfenform angenommen, was an dem breiten, die Zelle umschließenden Lichtkranz deutlich zu erkennen ist. In der Anaphase (k-o) wird die bipolare Ausrichtung der einstrahligen Spindelfigur gut erkennbar. Kurz vor Beginn der Telophase (o) erscheinen beide Schwesterchromosomengruppen schon viel grobscholliger als noch wenige Minuten zuvor in der Anaphase (z.B.: m). Zwei einkernige Tochterzellen (relativer DNS-Gehalt jeweils 5c) gehen aus dieser Mitose hervor.

Tabelle 15: Liste der Zellen, die erst nach Durchlaufen des prometaphasischen 'Hohlspindel'-Durchgangsstadiums einstrahlige bipolare Spindelfiguren bildeten.

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	1	4 n	4
	2	3 n	1
	2	4 n	6
	2	unbekannt	3
Aneuploide Kultur	1	unbekannt	2
	2	unbekannt	1
	3	5 n	1

a3) Entstehung einstrahliger Parallelmitosen

Chromosomenbewegungen wie unter a1) und a2) beschrieben, können auch zur Entstehung einstrahliger Metaphasenfiguren mit mehr als zwei Spindelpolen führen. Diese beobachteten Parallelmitosen hatten entweder auf jeder Seite der Metaphasenfigur zwei Pole oder auf der einen Seite nur einen und auf der anderen zwei. Die Zahl der Pole wurde hier indirekt aus der Zahl der Tochterkerne bzw. der Zahl der Telophasenteile ermittelt. Aus den beobachteten Parallelmitosen gingen somit je drei bzw. vier Tochterkerne hervor.

Der unter a1) beschriebene Entstehungsmechanismus einstrahliger, hier jedoch drei- und vierpoliger Parallelmitosen ist dadurch charakterisiert, daß die Prometaphasechromosomen direkt ohne Bildung von Übergangsfiguren (wie z.B. Hohlspindeln) zur definitiven Metaphasenfigur konfluieren.

Tabelle 16: Liste der Zellen, deren Chromosomen direkt zu einer einstrahligen Parallelmitose konfluierten (vgl. a1).

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	2	4 n	3
Aneuploide Kultur	1	4 n	1
	2	4 n	1

Der unter a2) beschriebene Entstehungsmechanismus einstrahliger Metaphasenfiguren konnte auch bei der Bildung einstrahliger Parallelmitosen beobachtet werden. Stets fand sich eine Hohlspindel, die als Zwischenstadium zur Bildung der definitiven Metaphasenfigur (einstrahlige Parallelmitose mit drei oder vier Polen) überleitete.

Tabelle 17: Liste der Zellen, deren Chromosomen in den frühen Mitosestadien primär zu einer Hohlspindel konfluierten und erst nach diesem Durchgangsstadium die definitive einstrahlige Metaphasenfigur bildeten.

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	2	4 n	2
	2	unbekannt	1
	1	unbekannt	1
Aneuploide Kultur	2	4 n	1
	2	11 n	1

III.13 b) Entstehung dreistrahliger Metaphasenfiguren

Unterschiedliche Entstehungsmechanismen der definitiven Metaphasenfigur fanden sich auch in denjenigen polyploiden ein-, zwei- und dreikernigen Zellen, in denen dreistrahlige Teilungsfiguren beobachtet werden konnten.

b1) Direkt - 3str

In einigen Fällen entstanden dreistrahlige zwei-, drei- und mehrpolige Metaphasenfiguren durch direktes Konfluieren der Prometaphasechromosomen. Alle Teilstücke der mehrstrahligen Metaphasenplatte wurden bei diesem Vorgang gleichzeitig gebildet, so daß im Gegensatz zu der in anderen mehrstrahligen Mitosen beobachteten sukzessiven Strahlenbildung die endgültige Form der Metaphasenfigur schon in der Prometaphase andeutungsweise (Abbildung 17 c) erkannt werden konnte.

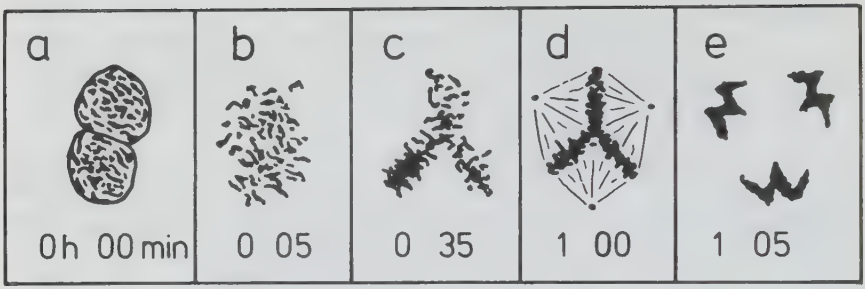


Abbildung 17: Schematische Darstellung der Entstehung einer dreistrahligen dreipoligen Metaphasenfigur durch direktes Konfluieren der Prometaphasechromosomen einer zweikernigen Zelle (Tabelle 1: zweikernige Zellen Nr.62)
a) Prophase; b,c) Prometaphase; d) Metaphase; e) späte Anaphase

Tabelle 18: Liste der Zellen, die den in Abbildung 17 dargestellten Entstehungsmechanismus einer dreistrahligen Metaphasenfigur in der Lebendbeobachtung erkennen ließen.

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	2	4 n	2
	2	5 n	3
	2	6 n	1
	2	8 n	1
Aneuploide Kultur	1	4 n	1
	2	21 n	1
	2	6 n	1
	3	unbekannt	1

b2) Suc - 3str

In fixierten und gefärbten Deckglaspräparaten fanden sich oft Anzeichen dafür, daß die einzelnen Metaphasenplatten einer mehrstrahligen Mitosefigur nacheinander gebildet werden können: Während einzelne Strahlen mehrstrahliger Spindelfiguren schon die für das Metaphasestadium typische Anordnung der Chromosomen erkennen ließen (geradlinige Strahlen mit dicht gepackten, nicht mehr unterscheidbaren Einzelchromosomen), war in anderen Strahlen gerade erst das prometaphasische Entwicklungsstadium erreicht. Hier lagen die Chromosomen noch als locker gruppierte Schar, ohne daß eine definitive Äquatorialplatte erkennbar gewesen wäre.
Die Lebendbeobachtung polyploider Mitosen brachte eine Erklärung für diese Einzelbefunde (Abbildung 18). Tatsächlich handelt es sich hier um einen Entstehungsvorgang mehrstrahliger Mitosen, der dadurch charakterisiert werden kann, daß die einzelnen Strahlen nacheinander und nicht simultan gebildet werden. Im Phasenkontrastbild erschienen die Prometaphasechromosomen kurz nach der Prophase locker gruppiert (Abb.18 b), bis schließlich einzelne Chromosomen sich zu einem Strahl zusammenlegten (Abb.18 c); kurz darauf entstand auf gleiche Weise ein zweiter Strahl und schließlich ein dritter, bis die dreistrahlige Figur fertig ausgebildet vorlag. Besonders während der späten Prometaphase und frühen Metaphase (Abb.18 d,e) war ein diskretes Hin- und Herschwingen einzelner Strahlen festzustellen (Pfeile in Abb.18 d,e).

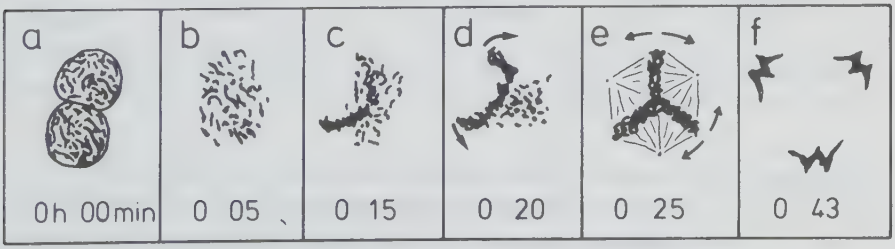


Abbildung 18: Schematische Darstellung der Entstehung einer dreistrahligen Metaphasenfigur durch sukzessive Bildung der einzelnen Strahlen (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.60). a)Prophase; b-d) Prometaphase; e) Metaphase; f) späte Anaphase

Tabelle 19: Liste der Zellen, die den in Abbildung 18 dargestellten Entstehungsmechanismus einer dreistrahligen Metaphasenfigur in der Lebendbeobachtung erkennen ließen.

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	2	4 n	2
	2	6 n	2
	2	8 n	1

b3) HS - konfl. 3str

Eine weitere Variante der Entstehung dreistrahliger Mitosen zeigt Abbildung 19. Die prometaphasischen Chromosomen werden zu einer kreisförmigen Hohlspindel gruppiert. Durch Bewegung der Chromosomen in Richtung des Hohlspindelzentrums wird die regelmäßige Kreisform der Hohlspindel aufgehoben, und es entsteht eine dreistrahlige

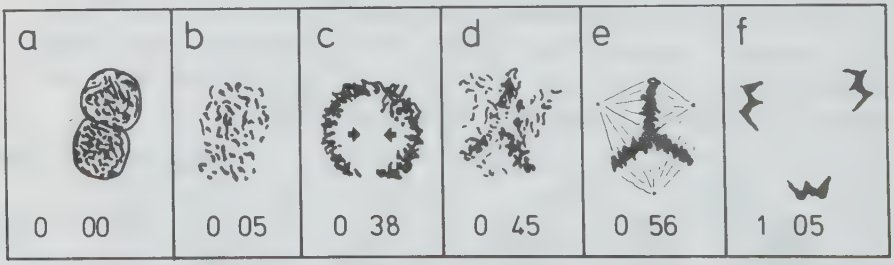


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Entstehung einer dreistrahligen Metaphasenfigur. Bevor hier die Chromosomen zur definitiven Metaphasenfigur konfluieren, werden sie in einer kranzförmigen Hohlspindelfigur gesehen. (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.57)
a) Prophase; b-d) Prometaphase; e) Metaphase; f) späte Anaphase

Metaphasenfigur. Hierbei handelt es sich - wie die Beobachtungen in mehreren optischen Ebenen der kugelförmigen Zelle ergaben - nicht um einen Kippvorgang der Hohlspindel aus der horizontalen in eine vertikale Lage. In diesem Fall stellt die Hohlspindel ein Zwischenstadium dar, das in eine dreistrahlige Figur übergeht, indem die Chromosomen sich in Richtung des Hohlspindelzentrums bewegen (Pfeile in Abb.19 c).

Tabelle 20: Liste der Zellen, die den in Abbildung 19 dargestellten Entstehungsmechanismus dreistrahliger Metaphasenfiguren in der Lebendbeobachtung erkennen ließen.

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	1	4 n	1
	2	4 n	3
	2	6 n	1
	2	unbekannt	1
Aneuploide Kultur	2	6 n	1

III.13 c) "Two-group metaphase"

In der Regel bestehen mitotische Teilungsfiguren aus einer einzigen (ein- und mehrstrahlige Mitosen) oder aus zwei in ihren Ausmaßen nicht wesentlich voneinander abweichenden Metaphasenfiguren (Doppelmitosen, Parallelmitosen, Bimitosen). Metaphasen, die sich aus einer Haupt- und ein oder zwei wesentlich kleineren Nebenfiguren zusammensetzen, stellen in diesem Zusammenhang eine Besonderheit dar, zumal das Auftreten kleinerer Chromosomengruppen in einer Polregion der größeren Haupt-Metaphasenfigur als Indiz für wesentliche Störungen des mitotischen Geschehens gewertet werden kann.
Obwohl derartige, als "two-group metaphases" bzw. "three-group metaphases" bezeichnete Teilungsfiguren seit langem bekannt sind (PARMENTIER und DUSTIN, 1948), erstreckte sich ihre genauere Untersuchung bisher im wesentlichen nur auf in-situ Analysen fixierter und gefärbter Zellen (HENEEN, 1970). Über die Entstehung, den Ablauf der zur Bildung einer two-group metaphase führenden mitotischen Ereignisse und über die Teilungsprodukte von two-group bzw. three-group metaphases können in-situ Analysen - wenn überhaupt nur sehr mangelhaft Auskunft geben.
Da es gelang, in der Lebendbeobachtung die Entstehung einer two-group metaphase vollständig zu verfolgen (Abbildung 20), soll an dieser Stelle eine genaue Beschreibung der mitotischen Vorgänge und eine Diskussion der für die Entstehung von two-group metaphases besonders relevanten Mitoseereignisse erfolgen.

PROPHASE (Abb.20 a,b): Die beiden während der frühen Interphase noch weit voneinander entfernten ovalen Zellkerne bewegten sich aufeinander zu und legten sich mit ihren Längsseiten so nahe nebeneinander, daß schließlich ein internukleärer streifenförmiger Cytoplasmasaum (internukleärer Spalt) im Phasenkontrast nicht mehr zu erkennen war. Die aus zwei Kernmembranen bestehende Doppelmembran zwischen den beiden Zellkernen war zu Beginn der Prophase noch geradlinig gestrecktund zeigte erst wenige Minuten später eine S-förmige Krümmung. Die Körnung des Karyoplasmas wurde durch Nukleoli (grobe Schollen) und durch unterschiedlich stark konden-

sierte Chromosomen (feinere Granulierung; insbesondere im in Abb. 20 a rechts gelegenen Zellkern) hervorgerufen. Im größeren Zellkern (in den Abbildungen rechts gelegen) waren zu diesem Zeitpunkt (frühe Prophase; Abb.20 a) schon mehrere scheinbar randständige, mäßig stark kondensierte Chromosomen erkennbar; dagegen wies der kleinere Kern (links) noch die für die ersten Prophaseminuten charakteristische diskrete Körnung des Karyoplasmas auf.

In diesem Stadium - ebenso wie in der vorausgegangenen Interphase - war die Zelldicke sehr gering. Die Lebendbeobachtung zeigte, daß alle Mitoseereignisse in einer optischen Ebene abliefen. Im Gegensatz zur Interphase der Fibroblasten, für die eine sehr flache Zellform charakteristisch ist, ist die Mitose gewöhnlich an der stark lichtbrechenden Kugelform der Zelle zu erkennen. Ganz im Gegensatz zu allen anderen während der Mitose verfolgten Fibroblasten zeigte diese Zelle jedoch nur einen geringgradigen mitotischen Dickenzuwachs.
Vier Minuten später waren auch im linken Kern die ersten kondensierten Chromosomen zu erkennen (Abb.20 b). Das unterschiedliche Kondensationsverhalten in den beiden Zellkernen verdeutlicht, daß trotz eines verhältnismäßig hohen Synchroniegrades im Prophasebeginn dieses Kernpaares ein ungefähr dreiminütiger Abstand zwischen den entsprechenden Prophasestadien beider Kerne bestand. Diese leichte Asynchronie blieb bis zum Ende der Prophase (Auflösung der Kernmembran als charakteristisches Zeichen der beginnenden Prometaphase) bestehen. Die zwischen den Kernen gelegene Doppelmembran war jetzt nicht mehr gestreckt sondern leicht gebogen. Die während der Lebendbeobachtung mit dem Auge nicht mehr wahrnehmbaren, äußerst langsamen Krümmungsbewegungen können als Indiz für die in beiden Kernen wirkenden Zug- und Schubkräfte gewertet werden.
An den beiden Polen des Kernpaares fanden sich von einem hellen Hof umgebene punktförmige Zentren, die der Kernmembran unmittelbar auflagen und sie hier muldenförmig eindrückten (Pfeile in Abb.20 b). In fixierten (HENEEN, 1970) und in lebenden Zellen (BAJER und MOLE-BAJER, 1969) konnte gezeigt werden, daß an dieser Stelle die Kernmembran zu Beginn der Prometaphase zuerst aufbrach. Tatsächlich

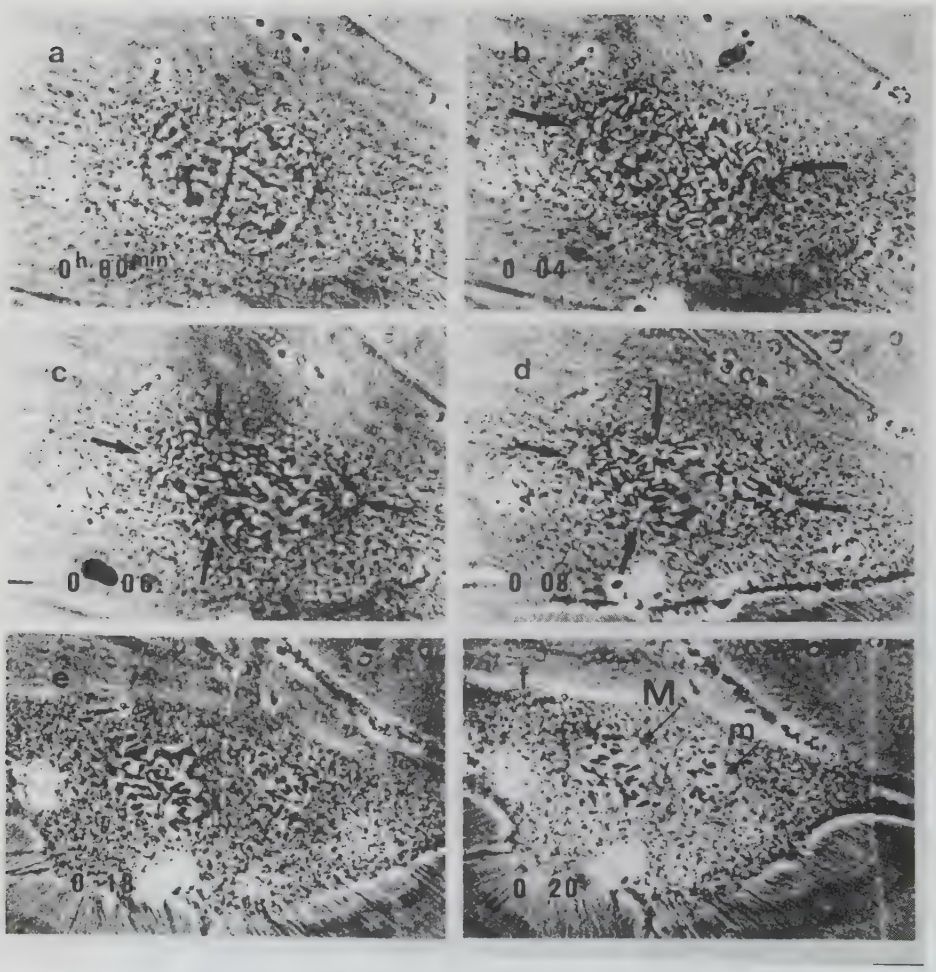


Abbildung 20 a-f: Mitose der zweikernigen Zelle Nr.52
Entstehung einer 'Two-group metaphase'
Pfeile in b-d markieren spätere Pole; die punktförmigen Körperchen im Zentrum der markierten Regionen sind möglicherweise Kinetozentren
Weitere Erläuterungen: siehe Text

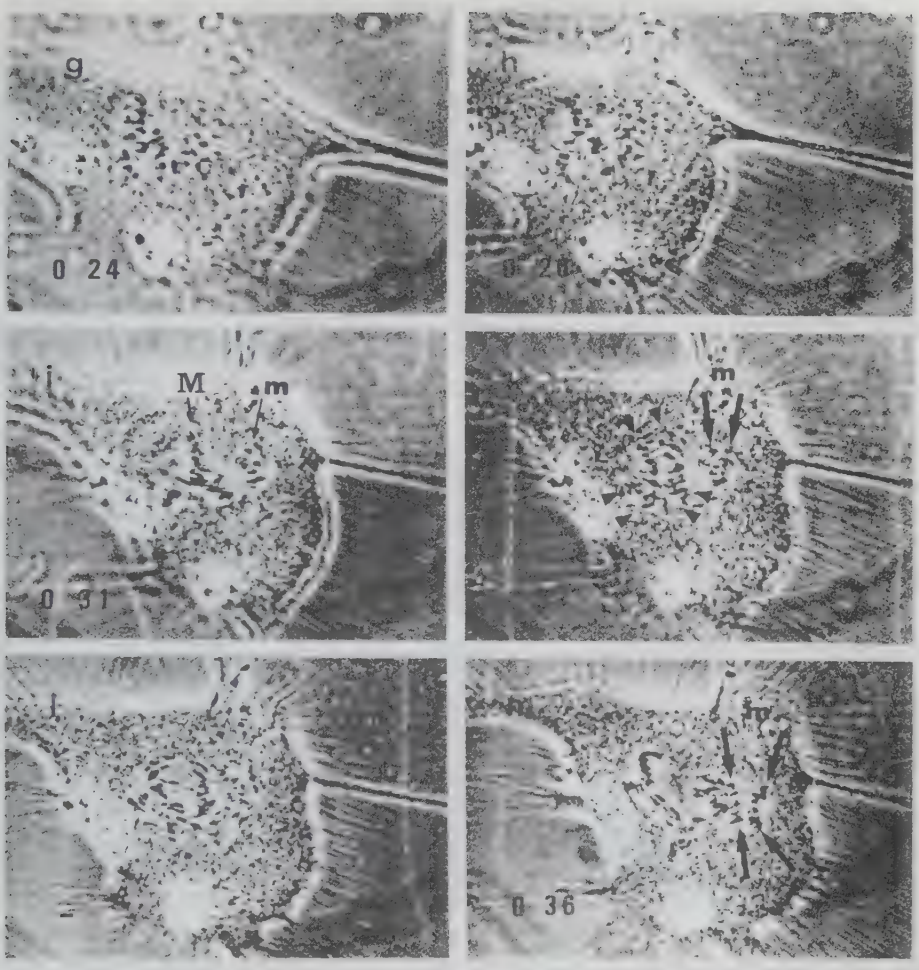


Abbildung 20 g-m: (Fortsetzung von S.134)
'Two-group metaphase': M und m kennzeichnen Haupt- bzw. Nebenmetaphasenfigur. Pfeile in k) und m) deuten auseinanderweichende Schwesterchromosomengruppen in der frühen bzw. späten Anaphase an. Weitere Erläuterungen: siehe Text

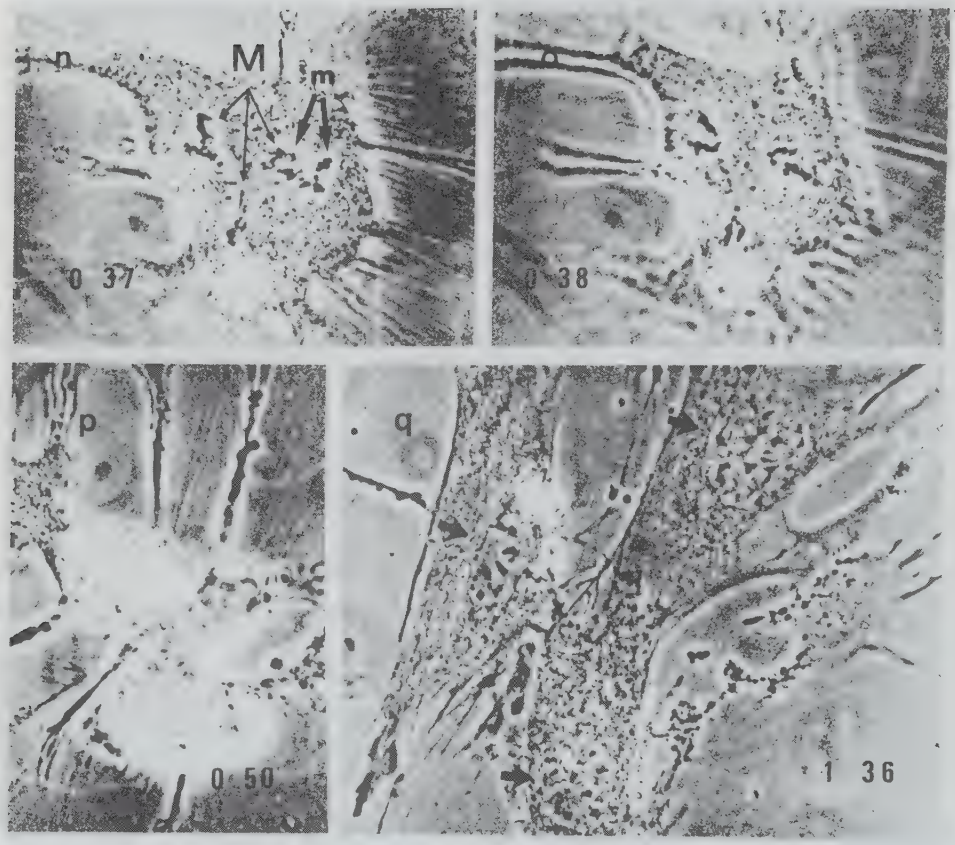


Abbildung 20 n-q: (Fortsetzung von S.134/135)
'Two-group metaphase': Pfeile in n) kennzeichnen Schwesterchromosomengruppen beider (M und m) Figuren; beachte Fusion der drei in n) ganz rechts gelegenen Chromosomengruppen! Aus der Mitose gehen drei einkernige (Pfeile in q) Tochterzellen hervor.
Weitere Erläuterungen: siehe Text

führte auch hier die muldenförmige Einsenkung etwas später zu einer tieferen Einstülpung der Kernmembran mit nachfolgender Membranauflösung an dieser Stelle.
Gegen Ende der Prophase strebten die Chromosomen des rechten Kerns bei noch intakter Kernmembran drei scheinbar in der Kernperipherie gelegenen Polen zu, die nach Auflösung der Membran in der Prometaphase deutlich zu erkennen waren (Pfeile in Abb.20 c; hier zeigte sich schließlich, daß nicht nur drei sondern wenigstens vier Polregionen vorhanden waren). Schon in diesem Mitosestadium war eine rechts gelegene Chromosomengruppe von den übrigen drei noch in einer gemeinsamen Prometaphasengruppe gelegenen Chromosomen relativ weit entfernt. Am äußeren Rand dieser später mit 'm' (Abb.20 f) bezeichneten Chromosomengruppe fand sich ein punktförmiges Körperchen (siehe auch Abb.20 c: hier lagen diese punktförmigen Körperchen im Zentrum eines jeden der von Pfeilen markierten hellen Höfe).
PROMETAPHASE und METAPHASE (Abb.20 c - i): Zu Beginn der Prometaphase war die Kernmembran nicht mehr sichtbar; sie hatte sich aufgelöst (Abb.20 c). Alle Chromosomen wiesen denselben Kondensationsgrad auf. Eine leichte Asynchronie zwischen den Mitosestadien beider Kerne bestand zu diesem Zeitpunkt nicht mehr.
Die Chromosomen bewegten sich auf mehrere Mitosezentren zu, um die sie sich zu kranzförmigen Formationen anordneten (Pfeile in Abb.20 c,d). In PtK_1-Zellen und in menschlichen Lu106-Zellen ist ein ähnliches Chromosomenverhalten im Zeitraum zwischen später Prophase und früher Metaphase von HENEEN (1970) und HENEEN et al. (1970) häufig beobachtet worden. Obwohl in der Lebendbeobachtung nur noch eine einzige weitere Lungenfibroblastenzelle derartige prometaphasischen Sternformationen der Chromosomen erkennen ließ, schien es sich hierbei also nicht um einen ungewöhnlichen Mitoseablauf zu handeln, denn auch FELL und HUGHES (1949) konnten in kultivierten Mäusezellen eine vergleichbare früh-metaphasische Chromosomenpolarisation um mehrere Mitosezentren beobachten. ZIRKLE (1956) gab diesen Chromosomen die Bezeichnung 'centrophil'. EUTENEUER (zit. aus ROOS, 1976; p.383) beobachtete in Xenopus-Herzzellen je zwei dieser aus ringförmig angeordneten Chromosomen

bestehende Aster. Sie stellte fest, daß derartige Prometaphasechromosomen nur mit dem nächstgelegenen Pol mikrotubuläre Verbindungen eingehen; die zwischen zwei oder mehreren Astern gelegenen Chromosomen wirkten jedoch häufig amphiorientiert, d.h. sie bildeten mikrotubuläre Verbindungen mit zwei Polregionen. In der späten Prometaphase waren schließlich alle Chromosomen amphiorientiert. Diese in Xenopus- und PtK-Zellen beschriebene Doppelorientierung mitotischer Chromosomen (ROOS, 1976) schien zumindest in der weit rechts gelegenen Chromosomengruppe (Abb.20 d) auch im weiteren Mitoseverlauf nicht (!) zu existieren, denn die Chromosomen dieser Gruppe gingen später mit den übrigen Polen keine funktionell relevanten Verbindungen ein (vgl. Abb.20 e-i).
Die Chromosomen der drei linken, nahe beieinanderliegenden Sterne bildeten später eine gemeinsame dreistrahlige Metaphasenfigur ('M' in Abb.20 f,i); die Chromosomen des weiter entfernten rechten Sterns gruppierten sich gleichzeitig zu einer kleinen, selbständigen Metaphasenplatte ('m' in Abb.20 f,i), die mit der größeren Figur nicht in Verbindung stand. Derartige Anordnungen der Metaphasechromosomen sind typisch für 'two-group metaphases' (HENEEN, 1970).
Im späten Prometaphasestadium geriet der Zelleib schließlich in Bewegung (Abb.20 d): Die Zelle ging aus der flachen, großflächigen in eine mehr abgerundete, fast halbkugelförmige Gestalt über, ohne die sonst für mitotische Fibroblasten typische Kugelform annähernd zu erreichen. Durch diesen Vorgang wird möglicherweise der für die Ausbildung eines intakten, dreidimensionalen Spindelapparates notwendige Raum geschaffen. Innerhalb weniger Minuten wurden die Chromosomen nun in zwei deutlich gegeneinander abgrenzbare Metaphasenfiguren bewegt (Abb.20 e,f). Die größere, dreistrahlige Figur hatte die Form eines auf dem Kopf stehenden Y, die abseits gelegene, kleinere Figur war mehr gestreckt. Beide Figuren näherten sich schließlich einander, ohne jedoch endgültig eine gemeinsame Metaphasenfigur zu bilden. Die Metaphasenfiguren wurden von einem hellen homogenen Hof ('Archiplasma' oder 'Mixoplasma') umgeben. Das Karyoplasma war in diesem Bereich optisch klar und unstrukturiert, da in diesem von Spindelfasern durchzogenen Bezirk offensichtlich alle Zellorganellen verdrängt worden waren.

ANAPHASE (Abb.20 k - o): Die Chromosomen der größeren Figur wurden auf drei Pole verteilt. Die Chromosomen der kleineren Figur wichen weniger weit auseinander; trotzdem entstand der Eindruck, daß auch sie auf die beiden Pole einer nicht sichtbaren bipolaren Spindelfigur verteilt wurden. Hierbei sollte allerdings auch in Erwägung gezogen werden, daß ein Auseinanderweichen der beiden Chromatiden eines Chromosoms auch in Abwesenheit einer mitotischen Spindel möglich sein kann, jedoch bleibt der Abstand zwischen den beiden Schwesterchromatiden sehr gering.
Zwischen den zwei linken Chromosomengruppen, die aus der dreistrahligen Figur hervorgegangen waren, lagen langgestreckte Chromosomen (Abb.20 m). Hierbei handelte es sich um die Chromatiden der großen Geschlechtschromosomen, die aufgrund einer erhöhten 'stickiness' auch in der Anaphase länger als die Schwesterchromatiden der Autosomen aneinander haften blieben (vgl. Abb. 10m).

TELOPHASE und frühe INTERPHASE (Abb.20 p - q): In der Anaphase gingen aus der dreistrahligen Metaphasenfigur drei und aus der kleineren Figur zwei (?) Chromosomengruppen hervor. Die beiden letzteren vereinigten sich jedoch später mit dem weit rechts gelegenen Telophasenteil der dreistrahligen Metaphasenfigur zu einem Zellkern (Abb.20 m-o). Die beiden restlichen Chromosomengruppen wurden jeweils von einer eigenen Kernmembran umgeben, so daß schließlich insgesamt drei Tochterkerne aus der two-group metaphase hervorgingen. Nach erfolgter Cytokinese lagen drei einkernige Tochterzellen nebeneinander (Pfeile in Abb. 20q).

Die in dieser Mitose einer zweikernigen Lungenfibroblastenzelle der Erdmaus beobachtete Anordnung der Metaphasenchromosomen in zwei vollständig voneinander getrennten Metaphasenplatten stellte in den untersuchten ein- und mehrkernigen Zellen eine ausgesprochene Rarität dar und konnte insgesamt nur einmal beobachtet und photographiert werden. Da es sich jedoch hierbei nach Ansicht mehrerer Autoren (HENEEN, 1970; HENEEN et al., 1970; ROOS, 1971, 1973 a, 1976) um eine für die gegenwärtig diskutierten Modelle der Spindel-

bildung und der Kinetochor-Centriol-Interaktion wesentliche Beobachtung handelt, erscheint eine Diskussion der in der two-group metaphase beobachteten mitotischen Ereignisse notwendig.
HENEEN (1970) und ROOS (1971, 1973 a,b, 1976) führten detaillierte licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an two-group und three group metaphases durch; sie diskutierten anhand dieser Metaphasenfiguren verschiedene Modelle der Entstehung von two-group metaphases, die hier teilweise wiederholt werden sollen.

Typische two- und three-group metaphases wurden nach Einwirkung unterschiedlicher Noxen wie Chemikalien, UV-Bestrahlung und niedriger Temperatur von verschiedenen Autoren beschrieben; sie finden sich aber auch spontan in vielen unbehandelten Zellen (Literatur bei HENEEN, 1970), in Zellinien des chinesischen Hamsters, Gewebekulturen menschlicher Feten, in HeLa- und Lu106-Zellen (OFTEBRO und WOLF, 1967; HENEEN, 1970; HENEEN et al., 1970). Two- und three-group metaphases, die sich besonders häufig in Kombination mit einer mehrpoligen Anordnung des Spindelapparates finden (OFTEBRO und WOLF, 1967; HENEEN et al., 1970; HENEEN, 1971), erreichen nur sehr selten die Anaphase; daß dies in Ausnahmefällen aber doch möglich sein kann, unterstrich PARMENTIER (1953). Auch die hier (Abb.20) beschriebene two-group metaphase erreichte das Anaphasestadium und führte schließlich zur Entstehung von drei Tochterkernen.
DARLINGTON beschrieb schon 1936 ähnliche Metaphasenfiguren mit kleineren, separaten Äquatorialplatten ('accessory plate'), deren Entstehung er mit ausbleibender Einordnung einiger weniger Chromosomen in die Hauptmetaphasenfigur ('non-congression') erklärte (DARLINGTON, 1937); FORD, WAKONIG und YERGANIAN (1959) sahen ebenfalls in Störungen der regulären Metaphasengeschehnisse die Ursache der Entstehung von zahlreichen kleineren metaphasischen Chromosomengruppen. REITBERGER (1940) beobachtete in den frühen Embryonalteilungen von Insekten (Oligarces paradoxus), daß einige wenige, von der Mehrzahl der Chromosomen abgesonderte Chromosomen während der Anaphase eine eigene kleine Spindelfigur erkennen ließen.
HUGHES-SCHRADER und RIS (1941) machten ähnliche Beobachtungen: Sie stellten fest, daß bei der Entstehung von Chromosomenbruch-

stücken jedes einzelne Chromosom seine eigene Spindel bilden kann - unter der Voraussetzung, daß es ein Kinetochor enthält (BELLING, 1927; BEAMS und KING, 1938). GRUNDMANN (1971) wies darauf hin, daß auf diese Weise multizentrische Spindeln entstehen können; die Kinetochoren können also Zentren der Spindelbildung werden und somit Centriolen und sonstige Poldeterminanten ersetzen. In der Meiose von Mollusken beobachtete POLLISTER (1939), wie die Kinetochoren von degenerierenden Chromosomen losgelöst wurden und wie schließlich aus den Kinetochoren zusätzliche Centriolen hervorgingen.

Diese Beobachtungen könnten es wahrscheinlich erscheinen lassen, daß in der in Abb.20 i gezeigten two-group metaphase die Kinetochoren einiger weniger, nicht in die dreistrahlige Metaphasenfigur eingeordneter Chromosomen die Ausbildung einer separaten Spindel ermöglichen. POLLISTER und POLLISTER (1943) beispielsweise beschrieben in der Spermatogenese von Schnecken die Entstehung von Kinetozentren aus Kinetochoren.

Die gegenwärtig diskutierten Modelle der Entstehung von two-group metaphases und der Chromosomen-Centriolen-Interaktion verzichten jedoch größtenteils auf diese Möglichkeit der Polbildung und sehen aufgrund umfangreicher licht- und elektronenmikroskopischer Untersuchungen die Hauptursache in einem durch den flachen Zelleib bedingten Spindelbruch, der zur Entstehung von Halbspindeln führt (HENEEN, 1970), in Doppel-Centriolen (HENEEN, 1970) und in einer veränderten Kinetochoren-Centriolen-Interaktion (HENEEN, 1970; ROOS, 1976):

SPINDELBRUCH: Die von HENEEN (1970) und ROOS (1976) untersuchten two- und three-group metaphases fanden sich alle in Zellen vom Rattenkänguruh (Potorus tridactylis, PtK_1-Zellinie). Diese Zellen sind ebenso wie die in Abb.20 dargestellte Fibroblastenzelle auch während der Mitose außergewöhnlich flach, wogegen andere Zellen während der Zellteilung in der Regel Kugelform annehmen. Es ist denkbar, daß wegen der ungewöhnlich geringen Zelldicke die Ausbildung einer regulären Mitosespindel verhindert wird, so daß die einzelnen Chromosomen größtenteils in ihrer Prometaphaseposition liegenbleiben und nicht an der Bildung der Metaphasenfigur teil-

nehmen können. Diese ganz oder auch nur teilweise unterdrückte Spindelbildung würde dann in der Anaphase nur eine geringgradige Trennung der Schwesterchromatiden von nicht in die Hauptmetaphasenfigur integrierten Chromosomen gestatten (Mechanismus ähnlich der C-Mitose). In den Untersuchungen von BIESELE (1958), DIETZ (1966), RAO und ENGELBERG (1966, 1967), SETO, KEZER und POMERAT (1969) finden sich nach HENEEN (1970) direkte und indirekte Argumente für die Theorie, daß eine two-group metaphase die Folge einer gestörten Spindelbildung oder einer sekundär durch den flachen Zelleib bedingten Spindelseparation mit nachfolgender Entstehung zweier Halbspindeln sein könnte. Ein ähnlicher Entstehungsmodus könnte somit auch für die Bildung multipolarer Mitosen diskutiert werden.
Die hier wiedergegebenen Beobachtungen (Abb.20) widersprechen diesen Theorien nicht: Die zweikernige Fibroblastenzelle war außergewöhnlich flach; in der Anaphase wichen die Schwesterchromatiden der Chromosomengruppe 'm' nur über eine geringe Distanz (fehlende Spindelfasern?) auseinander. Obwohl diese Chromosomen aufgrund ihrer ursprünglich weit peripheren Lage in der Prometaphasengruppe (Abb.20 c,d) bei der Einordnung in die dreistrahlige Metaphasenfigur deutlich benachteiligt waren, fanden sich hier jedoch keine direkten Hinweise auf eine gestörte Spindelbildung.

DOPPEL-CENTRIOLEN: Abb.20 c läßt erkennen, daß in der zweikernigen Zelle wenigstens vier, möglicherweise jedoch noch mehr punktförmige Kinetozentren lagen, die sich aus einem oder mehreren Centriolen zusammensetzen können. Unter der Voraussetzung, daß das während der Prometaphase in der späteren Chromosomengruppe 'm' erkennbare Kinetozentrum (Abb.20 d) ein Doppel- oder Mehrfachcentriol ist, erscheint die Orientierung der beiden Schwesterkinetochoren eines Chromosoms in Richtung nur eines einzigen, jedoch aus zwei Centriolen bestehenden Pols durchaus denkbar. Die periphere Lage dieser monopolar orientierten Chromosomen und die fehlenden Kinetochor-Centriolen-Verbindungen mit anderen Polen erklären in diesem Fall die ausbleibende Einordnung der 'm'-Gruppen-Chromosomen in die dreistrahlige Metaphasenfigur.

Die hohe Centriolenzahl einer zweikernigen, wahrscheinlich polyploiden Zelle würde hier genau das Gegenteil einer mehrpoligen Spindelanordnung bedingen: Mit steigender Centriolenzahl wächst die Zahl potentieller Spindelpole; liegen nun zwei dieser potentiellen Spindelpole in einer gemeinsamen Polregion nahe nebeneinander, so ist eine pseudo-bipolare Orientierung der beiden Schwesterkinetochoren nahegelegener Chromosomen in Richtung nur einer einzigen Spindelpolregion möglich, und es kommt schließlich zur Ausbildung einer unipolaren Spindel.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Kinetochoren-Centriolen-Verbindungen in multipolaren Mitosen zeigen jedoch, daß die beiden Schwesterkinetochoren eines einzelnen Chromosoms im Verlauf der Prometaphase durchaus mit mehr als nur je einem Pol in Verbindung stehen können (HENEEN, 1975); die pseudo-bipolare Orientierung wäre somit das Resultat eines für die Zelle "ungünstig" verlaufenen Kräftespiels zwischen mehreren Spindelpolen.

KINETOCHOREN-ORIENTIERUNG: Da two- und three-group metaphases besonders häufig in multipolaren Mitosen, Spindelfiguren mit mehr als nur zwei Polen, gefunden werden, erscheint die Doppel-Centriol-Theorie durchaus plausibel (HENEEN, 1970). Eine weitere, auf einer veränderten Schwesterkinetochoren-Polregionen-Interaktion beruhende Theorie wird von HENEEN (1970) und ROOS (1976) diskutiert. Gewöhnlich sind die beiden Schwesterkinetochoren eines Chromosoms am Ende der Metaphase mit Spindelfasern verbunden, die zu je einem von zwei gegenüberliegenden Polen einer bipolaren Spindel führen; die Chromosomen liegen somit in der Zone des 'Kräftegleichgewichts'. Bis zu diesem Stadium ist jedoch die Orientierung beider Schwesterkinetochoren eines Chromosoms in Richtung auf den nähergelegenen Pol möglich ('monotelic' oder 'syntelic orientation' - ROOS, 1976) und weit häufiger anzutreffen als die direkte Chromosomenbewegung in Richtung auf den entfernteren Pol bzw. die sofortige Einordnung in die Äquatorialebene ('direct congression'). Bis zum Ende der Metaphase bzw. bis zum Erreichen des Stadiums der 'amphitelic orientation' (Orientierung der beiden Schwesterkinetochoren auf je einen der beiden gegenüberliegenden Pole - ROOS, 1976) sehen sich die meisten Chromosomen einem Kräftespiel unterworfen, das ROOS

(1976) mit der synchronen bzw. asynchronen Entstehung von Spindelfasern der beiden Schwesterkinetochoren erklärt. Da die meisten der in der Nähe eines Pols gelegenen Prometaphasechromosomen nur - wie ROOS (1976) in licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Rattenkänguruhzellen zeigen konnte - in Richtung dieses nächstgelegenen Pols orientiert sind, ist eine möglicherweise durch die geringe Zelldicke bedingte, unterdrückte 'amphitelic orientation' als Ursache einer two-group metaphase denkbar und auch für die beobachtete Mitose nicht auszuschließen: Auch hier lagen schon während der Prometaphase die Chromosomen der später mit 'm' bezeichneten Gruppe um einen in unmittelbarer Nähe gelegenen Pol geschart; die Entfernung zu den anderen Polen war dagegen im Vergleich außergewöhnlich groß. Dieser Umstand (d.h. die 'monotelic orientation' der 'm'-Gruppen-Chromosomen und die große Entfernung zu den restlichen Spindelpolregionen) in Kombination mit der geringen Zelldicke verhinderte möglicherweise eine reguläre spätere 'amphitelic orientation', so daß eine two-group metaphase notwendigerweise entstehen mußte. Außerdem könnten ungewöhnlich starke Spindelkräfte für das Herauslösen einer kleinen Chromosomengruppe aus der gemeinsamen Prometaphasengruppe verantwortlich zu machen sein (HENEEN, 1970).

III.13 d) Entstehung vierstrahliger Metaphasenfiguren

Die in der Lebendbeobachtung verfolgten vierstrahligen Metaphasenfiguren zeigten zwei im Aufbau voneinander abweichende Varianten: Neben den von einer zusammenhängenden Chromosomenformation gebildeten vierstrahligen Metaphasen fanden sich auch vierstrahlige Figuren, die sich aus zwei übereinanderliegenden Chromosomengruppierungen zusammensetzten (Etagenmitosen) und somit eine Vierstrahligkeit nur vortäuschten.

d1) Direkt - 4str

Analog zu den bei der Entstehung dreistrahliger Metaphasenfiguren beobachteten Chromosomenbewegungen konnte auch die Entstehung einer vierstrahligen Metaphase durch direktes Konfluieren der in der ge-

meinsamen Prometaphasengruppe gelegenen Chromosomen beobachtet werden. Diese Mitose wurde in einer zweikernigen Zelle (Ploidie: 12 n) der aneuploiden Kultur gefunden.

d2) HS suc - 4str

In einer anderen zweikernigen Zelle (7 n) derselben Kultur wurde die Entstehung einer vierstrahligen Metaphasenfigur beobachtet, die mehrere Besonderheiten aufwies (Abb.21): Die in der gemeinsamen Prometaphasengruppe verstreut liegenden Chromosomen wurden zu einer ringförmigen Hohlspindel angeordnet; nach wenigen Minuten bewegten sich die Chromosomen auf das Zentrum der Hohlspindel zu und bildeten eine zweistrahlige Metaphasenfigur, aus der durch uhrzeigerartige Drehbewegungen der beiden Schenkel und aufeinanderfolgende Chromosomenanlagerungen eine dreistrahlige und schließlich eine vierstrahlige Metaphasenfigur mit fünf Spindelpolen hervorging. Aus dieser Mitose gingen fünf Tochterkerne hervor.

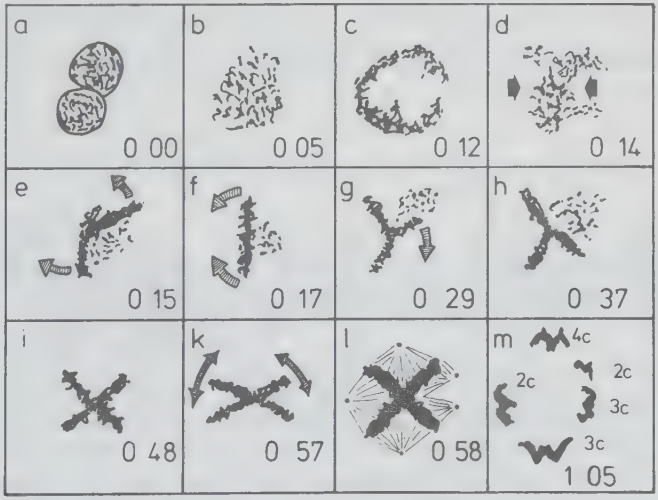


Abbildung 21: Schematische Darstellung der Entstehung einer vierstrahligen Metaphasenfigur (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.163)
a) Prophase; b-h) Prometaphase; i-l) Metaphase; m) späte Anaphase

d3) Direkt - Etagenmitose

In drei zweikernigen Zellen der euploiden Kultur wurden je zwei mit ihren Längsachsen senkrecht aufeinanderstehende bipolare Metaphasenfiguren beobachtet (Etagenmitosen). Die beiden einstrahligen Figuren waren aus einer gemeinsamen Prometaphasengruppierung hervorgegangen; sie zeigten jedoch zu Beginn der Anaphase keine erkennbaren Verbindungen mehr.

Abb.22 zeigt die Entstehung einer 8n-Etagenmitose: Die in der gemeinsamen Prometaphasengruppe gelegenen Chromosomen flossen zusammen und bildeten scheinbar eine dreistrahlige und etwas später vierstrahlige Metaphasenfigur. Die Beobachtung in mehreren optischen Ebenen ergab jedoch, daß es sich in Wirklichkeit um zwei fast im rechten Winkel übereinanderliegende einstrahlige Metaphasenplatten handelte. In der späten Telophase fusionierten je zwei Nicht-Schwester-Telophasenteile benachbarter Spindelpole miteinander, so daß schließlich zwei gleich große (leicht eingebuchtete) Tochterkerne entstanden, welche nun Chromosomen von beiden einstrahligen Teil-Figuren enthielten.

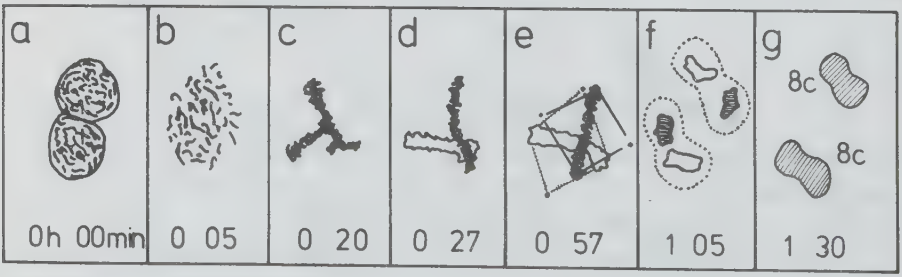


Abbildung 22: Schematische Darstellung der Entstehung einer scheinbar vierstrahligen Metaphasenfigur, die jedoch aus zwei separaten, übereinanderliegenden bipolaren Spindelfiguren besteht (Etagenmitose). (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr. 70)
a) Prophase; b,c) Prometaphase; d,e) Metaphase; f) Anaphase mit Kernfusion; g) Telophase

d4) HS suc - Etagenmitose / Direkt - Etagenmitose ohne Kernfusion

In den beiden anderen Fällen erfolgte die Bildung der Etagenmitose auf leicht modifizierte Weise: Einmal entstand die Metaphasenfigur mittels sukzessiver Strahlenbildung durch Hohlspindel-Chromosomen. Im zweiten Fall entstand die Etagenmitose 'direkt', ohne daß zusätzliche Chromosomenbewegungen beobachtet werden konnten. Die Telophasenteile fusionierten in diesem Fall nicht; es entstanden vier Tochterkerne.

Tabelle 21: Liste der in der Lebendbeobachtung verfolgten Etagenmitosen

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Tochterkerne	Zahl der Beobachtungen
Euploide	2	5 n	2	1
Kultur	2	6 n	4	1
	2	8 n	2	1

III.13 e) Verminderung und Vermehrung der Strahlenzahl in mehrstrahligen Mitosen während der Prometaphase und der frühen Metaphase

Die in der späten Prometaphase und frühen Metaphase beobachtete, scheinbar endgültig morphologisch fixierte Mitosefigur polyploider Zellen behielt diese momentane Konfiguration nicht immer unverändert bis zum Beginn der Anaphase bei. Die Lebendbeobachtung zeigte vielmehr, daß zur Umgestaltung der Metaphasenfigur führende Chromosomenbewegungen in prometaphasischen und metaphasischen Äquatorialplatten keine Seltenheit waren. So entstanden aus mehrstrahligen Mitosefiguren bis zum Ende der Metaphase einstrahlige bi- und multipolare Metaphasen oder in einigen Fällen auch Metaphasen mit nur einem Strahl weniger als vor der Umbildung vor-

handen war.
Der entgegengesetzte Vorgang, die Vermehrung der Strahlenzahl bis zum Beginn der Anaphase, wurde viel seltener beobachtet (nur eine Mitose!) als jene prometaphasischen und metaphasischen Chromosomenbewegungen, die zu einer Reduktion der Strahlenzahl mehrstrahliger Mitosen führten (zehn Mitosen). In acht dieser letztgenannten Mitosen entstanden schließlich einstrahlige bzw. nur leicht geknickte zweistrahlige Metaphasenfiguren.
Die Beobachtungen machen deutlich, daß die in fixierten und gefärbten Zellen gefundenen ein- und mehrstrahligen Metaphasenfiguren keineswegs immer die definitive Mitosefigur sind, da Umbildungsvorgänge bis zum Beginn der Anaphase nicht ausgeschlossen werden können.

e1) Konfl 1str - knick - 2str - 3str

In einer tetraploiden zweikernigen Zelle der euploiden Kultur konnte beobachtet werden, wie in der frühen Prometaphase die Chromosomen zu einer in der Mitte leicht geknickten zweistrahligen Metaphasenfigur gruppiert wurden. In den folgenden Minuten wurde aus der zweistrahligen eine einstrahlige gestreckte Äquatorialplatte, die jedoch nach kurzer Zeit in entgegengesetzter Richtung wiederum einknickte, um sich auf diese Weise zur zwei- und schließlich zur dreistrahligen Metaphasenfigur zu verändern. Diesem Übergang von der V-förmigen zur Y-förmigen Metaphasenfigur folgten Drehbewegungen, die die dreistrahlige noch unsymmetrische Metaphase zu einer symmetrischen Figur formten. Die dreistrahlige, dreipolige Mitose teilte sich in drei Tochterkerne mit dem relativen DNS-Gehalt 2c, 2c und 4c.
In den Abbildungen 23 (schematische Darstellung) und 24 (Photoserie der Lebendbeobachtung) sind die einzelnen Entwicklungsschritte wiedergegeben.

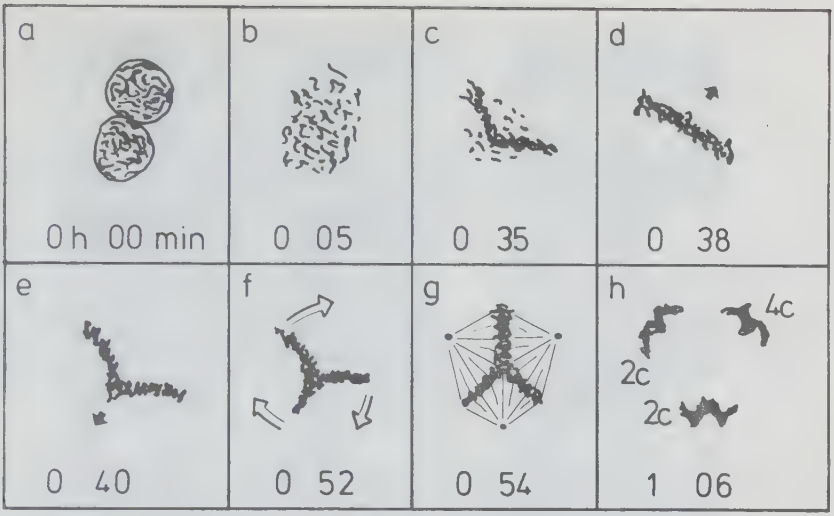


Abbildung 23: Schematische Darstellung der Entstehung einer dreistrahligen, dreipoligen Metaphasenfigur durch 'Einknicken' einer einstrahligen Äquatorialplatte (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.78)
a) Prophase; b-f) Prometaphase; g) Metaphase; h) späte Anaphase

Abbildung 24: Photoserie der in Abb.23 schematisch dargestellten Mitose
a) späte Interphase; b-l) Prometaphase; m,n) Metaphase; o-s) Anaphase

siehe S. 150

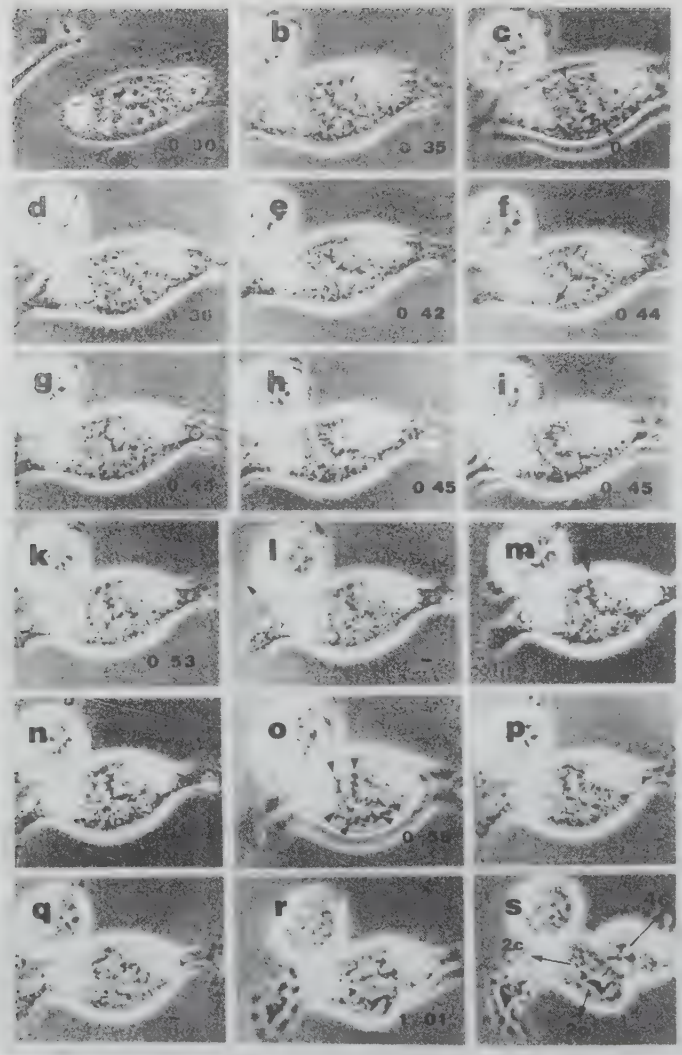


Abbildung 24: Mitose der zweikernigen Zelle Nr.76

siehe S.149

e2) 1str - knick - 2str

Die Entstehung einer V-förmigen zweistrahligen Metaphasenfigur mit zwei und mehr Spindelpolen konnte in der Lebendbeobachtung nur in wenigen Fällen verfolgt werden, da Zellorganellen allzu häufig die Chromosomen verdeckten und somit eine genaue Beobachtung der mitotischen Vorgänge unmöglich geworden war. Diese zum Teil lückenhaften Beobachtungen legten jedoch die Vermutung nahe, daß zweistrahlige Metaphasenfiguren in der Mehrzahl der Fälle durch Einknicken einer einstrahligen Figur entstanden; dieser Vorgang schien besonders häufig in V-Mitosen mit mehr als zwei Spindelpolen aufzutreten.

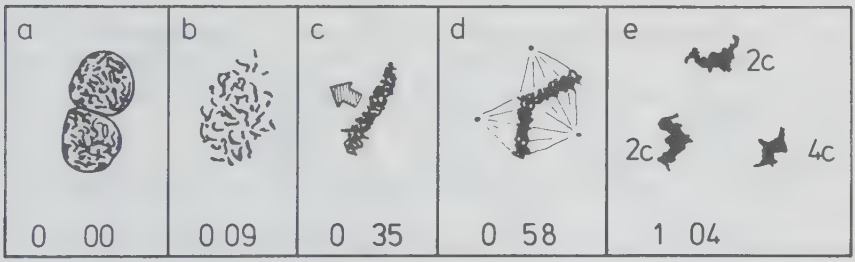


Abbildung 25: Schematische Darstellung der Entstehung einer zweistrahligen, dreipoligen Metaphasenfigur ('V-Mitose') durch Einknicken einer einstrahligen Äquatorialplatte (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.148)
a) Prophase; b,c) Prometaphase; d) Metaphase; e) Anaphase

Abb.25 zeigt, wie die prometaphasischen Chromosomen zu einer in diesem Stadium (einstrahlige Äquatorialplatte) scheinbar endgültig morphologisch fixierten Teilungsfigur angeordnet waren; innerhalb der nächsten 20 Minuten änderte diese Figur jedoch durch Einknicken in der Äquatorialplattenmitte ihre Form, und eine V-förmige Metaphasenfigur entstand. In der endgültigen Metaphasen-

figur waren Spindelpole nicht eindeutig identifizierbar. Es ließ sich somit nicht feststellen, ob die der konkaven Seite zugewandte Polregion aus nur einem oder evtl. mehreren, eng zusammengerückten Polen bestand, was als Folge des Einknickens gut vorstellbar wäre. In der nachfolgenden Telophase fand sich hier eine Chromosomengruppe mit dem relativen DNS-Gehalt 4c, wogegen die an der konvexen Figurseite gelegenen Polregionen Chromosomengruppen mit dem relativen DNS-Gehalt von je 2c aufwiesen.

Tabelle 22: Liste der Mitosen, die die in Abb.25 dargestellten Chromosomenbewegungen während der Lebendbeobachtung erkennen ließen

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	2	4 n	1
Aneuploide Kultur	1	4 n	2

e3) Konfl 2str - 1str Parallelmitose

Den umgekehrten Vorgang, nämlich die Entstehung einer mehrpoligen, einstrahligen Metaphasenfigur durch 'Aufklappen' einer V-Mitose, zeigt Abb.26; hierbei wurden die beiden Strahlen der V-Mitose so weit zur konvexen Figurseite gezogen, daß schließlich eine einstrahlige Metaphasenfigur entstand. Diese Figur war in den beobachteten Mitosen immer mehrpolig (Parallelmitose). Jedoch soll auch hier noch einmal betont werden, daß der Umwandlungsvorgang einer V-Mitose zur einstrahligen Mitose nur in wenigen Fällen eindeutig verfolgt werden konnte, da nicht selten die dreidimensionale Anordnung der Prometaphasechromosomen in der kugelförmigen mitotischen Zelle zusätzliche Figurstrahlen vortäuschte, die bei Beobachtung in einer anderen optischen Ebene dann nicht mehr auffindbar waren.
Es scheint jedoch zuzutreffen, daß einstrahlige mehrpolige Parallel-

mitosen weit häufiger durch derartige Umwandlungsvorgänge von V-Mitosen zu einstrahligen Metaphasenfiguren als durch andere, in der Lebendbeobachtung weniger häufig verfolgte mitotische Chromosomenbewegungen gebildet wurden. Genaue Aussagen über die tatsächlich vorhandene Polzahl in diesen Mitosen lassen sich mit der in dieser Arbeit verwendeten Methode der Polbestimmung nur in wenigen Fällen machen, da gerade in Parallelmitosen die Pole häufig so eng nebeneinander liegen, daß in der Telophase Fusionen von Schwester-Telophasenteilen benachbarter Spindelpole nicht selten sind.

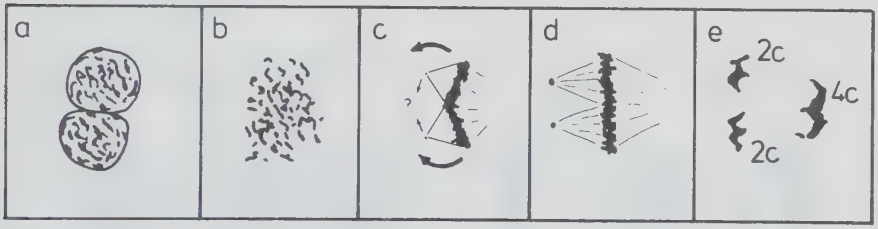


Abbildung 26: Schematische Darstellung der Entstehung einer einstrahligen Parallelmitose durch 'Aufklappen' einer zweistrahligen Äquatorialplatte (V-Mitose) (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr. 138)
a) Prophase; b,c) Prometaphase; d) Metaphase; e) Anaphase

e4) Konfl 2str - 1str

Nicht nur mehrpolige sondern auch zweipolige einstrahlige Mitosen können über den Umweg der V-Mitose entstehen. Dieser Vorgang wurde in diploiden Zellen jedoch so selten beobachtet, daß es durchaus möglich erscheint, in den untersuchten tri- und tetraploiden

Mitosen mit vergleichbarem Entstehungsmechanismus in den Polregionen nicht - wie oben erwähnt - nur jeweils einen Pol sondern vielmehr zwei oder mehrere eng nebeneinander liegende Spindelpole zu vermuten. Der Vorgang des 'Aufklappens' wäre somit mit der Annäherung benachbarter Pole der konvexen Figurseite zu erklären; Zellen mit nur zwei potentiellen Spindelpolen (also diploide Zellen) wären hierzu im Gegensatz zu polyploiden Zellen mit zahlreichen potentiellen Polen nicht in der Lage. In Abb.27 c und d wurden zur Verdeutlichung dieses hypothetischen Vorganges zwei Pole eingezeichnet, die sich aufeinanderzu bewegen (Pfeile in Abb.27 c) und schließlich eine gemeinsame Polregion bilden (Kreis in Abb.27 d).

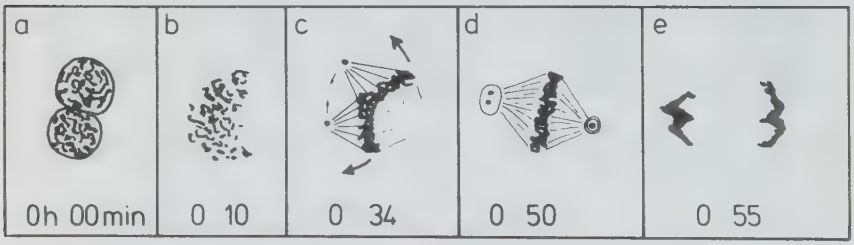


Abbildung 27: Schematische Darstellung der Entstehung einer einstrahligen bipolaren Mitose durch 'Aufklappen' einer zweistrahligen Äquatorialplatte
(Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.68)
Bezeichnungen wie Abb.26

Tabelle 23: Liste der Mitosen mit den in Abb.27 dargestellten Chromosomenbewegungen

	Zahl der Zellkerne	Ploidie	Zahl der Beobachtungen
Euploide Kultur	1	4 n	1
	2	3 n	1
	2	4 n	1

e5) Konfl 3str - 2str - 1str

Eine genaue morphologische Abgrenzung der zweistrahligen von der dreistrahligen Metaphasenfigur war nicht nur in der Lebendbeobachtung sehr schwierig. Wie Untersuchungen an Feulgen- und Giemsagefärbten Deckglaspräparaten zeigten, ist der Übergang von der zweistrahligen zur dreistrahligen Metaphasenfigur durchaus fließend; eine strenge Trennung zwischen zwei- und dreistrahligen Mitosen ist somit in vielen Fällen rein willkürlich. Da jedoch der mitotische Entstehungsmechanismus der dreistrahligen Metaphasenfiguren in vielen Fällen ein ganz anderer war als der der zweistrahligen Figuren, soll bei der Besprechung der mitotischen Chromosomenbewegungen die Unterscheidung in zwei- und dreistrahlige Metaphasen beibehalten werden.

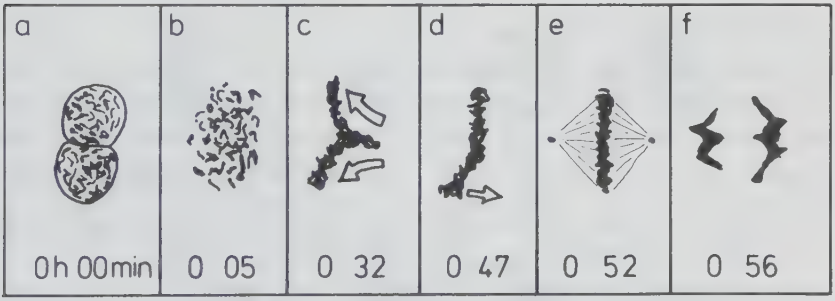


Abbildung 28: Schematische Darstellung der Entstehung einer bipolaren einstrahligen Metaphasenfigur durch 'Retraktion' eines Strahls einer dreistrahligen Prometaphasenfigur (c)
(Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr. 147)
a) Prophase; b)frühe Prometaphase; c,d) prometaphasische 'Retraktions'- und 'Aufklapp'-Bewegungen; e) Metaphase; f) Anaphase

In der in Abb.28 dargestellten Mitose konfluierten die Prometaphasechromosomen zu einer dreistrahligen Metaphasenfigur, die innerhalb von 15 Minuten durch Zurückziehen ('Retraktion') eines

Strahls zweistrahlig und schließlich durch weitere 'Aufklapp'-Bewegungen einstrahlig wurde. Der Vorgang des Zurückziehens wirkte in der Lebendbeobachtung anders als das sogenannte Aufklappen von V-Mitosen. Möglicherweise handelte es sich bei der 'Retraktion' eines Strahls um die Bewegungen einiger weniger, an der Spitze des dritten, kleineren Strahls gelegener Chromosomen, die in die beiden Haupt-Strahlen langsam eingeordnet wurden. Dagegen wurden beim 'Aufklappen' V-förmiger Metaphasenfiguren wahrscheinlich die beiden Äquatorialplatten in toto bewegt. Retraktions-Bewegungen fanden sich in der Regel in der frühen Prometaphase, wogegen Aufklapp- und Dreh-Bewegungen charakteristisch für die späte Prometaphase bzw. die frühe Metaphase waren.
Der in Abb.28 dargestellte Vorgang wurde in zwei tetraploiden zweikernigen Zellen der euploiden Kultur beobachtet.

e6) Konfl 4str - 1str

Ein ähnlicher Umbildungsvorgang fand sich in der Mitose einer tetraploiden zweikernigen Zelle der euploiden Kultur. Hier konfluierten die prometaphasischen Chromosomen zu einer vierstrahligen Prometaphasenfigur (Abb.29 c). Die auf zwei gegenüberliegenden

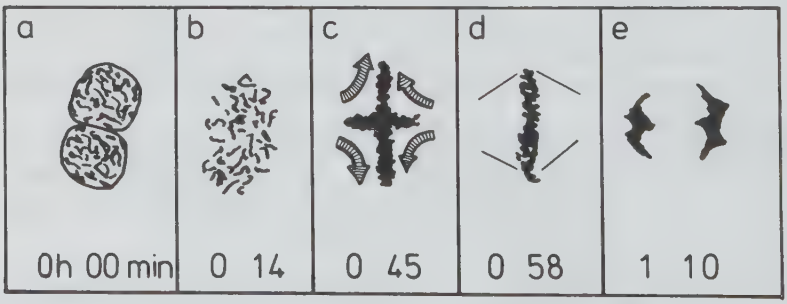


Abbildung 29: Schematische Darstellung der Entstehung einer bipolaren einstrahligen Metaphasenfigur durch 'Retraktion' von zwei gegenüberliegenden Strahlen einer vierstrahligen Prometaphasenfigur (c)
(Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.55)
a) Prophase; b,c) Prometaphase; d) Metaphase;
e) Anaphase

Strahlen plazierten Chromosomen wurden im Lauf der weiteren Prometaphase auf die beiden größeren Strahlen verteilt ('Retraktion'). Dies führte schließlich zur Entstehung einer bipolaren einstrahligen Metaphasenfigur. Auch hier ließ sich nicht eindeutig feststellen, ob die beiden Polregionen nur von je einem oder möglicherweise von je zwei eng zusammengerückten Polen gebildet wurden.

e7) HS konfl 4str - 3str

Die prometaphasischen Chromosomen einer oktoploiden zweikernigen Zelle der aneuploiden Kultur konfluierten zu einer ringförmigen Hohlspindelfigur, die in der Lebendbeobachtung zwei voneinander abgesetzte Hälften erkennen ließ (Abb.30 c). Diese Chromosomenformation löste sich innerhalb von drei Minuten auf, wobei die

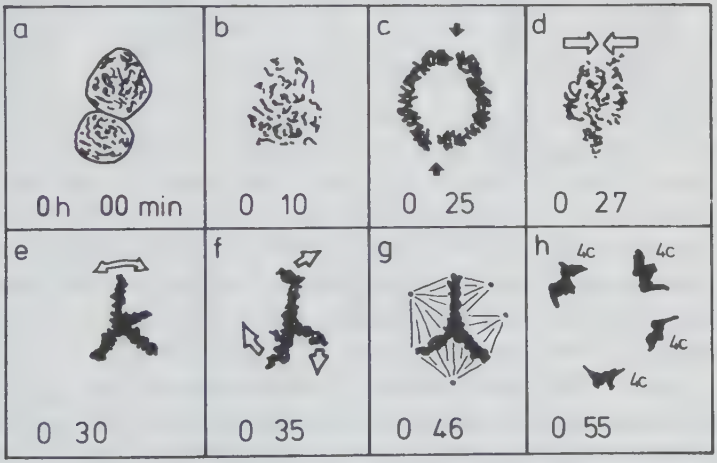


Abbildung 30: Schematische Darstellung der Entstehung einer vierpoligen dreistrahligen Metaphasenfigur durch Konfluieren der Hohlspindel-Chromosomen (d) und nachfolgende Umgruppierungs- (e) und Drehbewegungen der Prometaphasenfigur
(Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr. 162)
a) Prophase; b-f) Prometaphase; g) Metaphase; h) späte Anaphase

Chromosomen scheinbar dem ehemaligen Hohlspindelmittelpunkt zustrebten; nur sehr wenige Chromosomen schienen die Hohlspindelformation nach außen (also in zentrifugaler Richtung) zu verlassen, um erst später wieder zu den restlichen Chromosomen zu stoßen. Die Lebendbeobachtung konnte über das genaue Verhalten dieser Chromosomen jedoch keine weiteren Aufschlüsse erbringen.
Weniger als fünf Minuten nach Auflösung der Hohlspindel entstand eine asymmetrische vierstrahlige Prometaphasenfigur, deren Strahlen deutlich erkennbare Pendelbewegungen zeigten. Diese Bewegungen führten schließlich zur Bildung einer symmetrischen dreistrahligen Metaphasenfigur mit vier Spindelpolen; im Laufe der Dreh- und Pendelbewegungen hatte sich ein Strahl der ursprünglich vierstrahligen Figur durch 'Retraktion' aufgelöst.
Aus dieser Mitose gingen vier tetraploide Tochterkerne hervor.

e8) HS konfl 4str - 1str (Parallelmitose?)

Eine Kombination mehrerer oben beschriebener Varianten mitotischer Chromosomenbewegungen fand sich in einer zweikernigen 10n-Zelle der aneuploiden Kultur. Die prometaphasischen Chromosomen konfluierten hier zu einer Hohlspindel, die innerhalb der nächsten zehn Minuten aufgelöst wurde, indem die Chromosomen plötzlich die kranzförmige Hohlspindelformation verließen. Auch hier bewegten sich nur wenige Chromosomen in zentrifugaler Richtung von der Mehrzahl der zum Hohlspindelzentrum strebenden Chromosomen fort (Abb.31 c). Die Chromosomenbewegungen führten zur Entstehung einer asymmetrischen vierstrahligen Figur (e). Zwei gegenüberliegende Strahlen wurden durch Einordnung ihrer Chromosomen in die beiden übrigen Strahlen ('Retraktion') aufgelöst (f,g). Hierbei ließen sich in der Lebendbeobachtung in verschiedenen optischen Ebenen einzelne Chromosomen bzw. kleinere Chromosomengruppen verfolgen, die sich den verbliebenen Strahlen anlagerten. Es entstand der Eindruck, daß diese Anlagerungsbewegungen in Pfeilrichtung (f) erfolgten. Eine einstrahlige Metaphasenfigur entstand. Die nachfolgende Anaphase ließ an der weit ausgezogenen Form der Chromatidengruppen erkennen, daß es sich bei der einstrahligen Mitose möglicherweise um eine vier- oder mehrpolige Parallelmitose han-

delte. In der Telophase fusionierten mehrere Schwesterchromosomengruppen, so daß neben mehreren Mikrokernen zwei große Tochterkerne mit dem relativen DNS-Gehalt 9c und 11c entstanden.

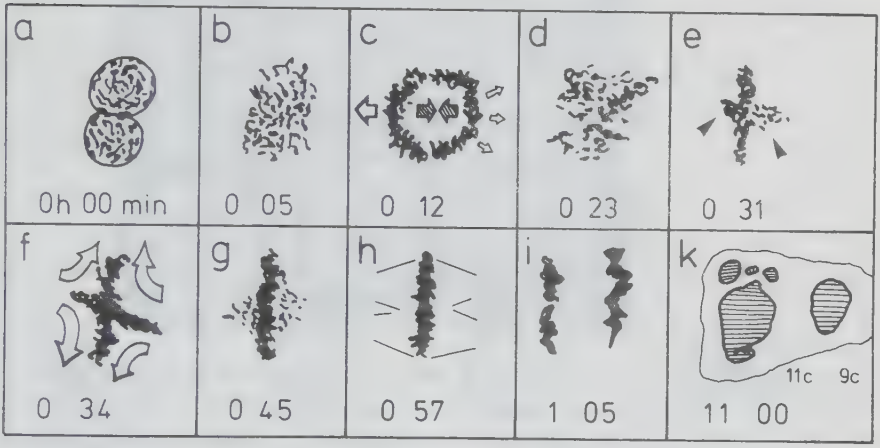


Abbildung 31: Schematische Darstellung der Entstehung einer einstrahligen Metaphasenfigur (Parallelmitose?) durch Konfluieren der Hohlspindel-Chromosomen (c,d) und nachfolgende 'Retraktion' von zwei Strahlen der vierstrahligen Prometaphasenfigur (e-g) (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr. 198)
a) Prophase; b-g) Prometaphase; h) Metaphase - Spindelpole konnten hier nicht eindeutig identifiziert werden; i) Anaphase; k) durch Fusion entstandene Tochterzelle mit Mikrokernen und zwei größeren Zellkernen in der Interphase

c-h) vgl. auch Photos in Abb.32

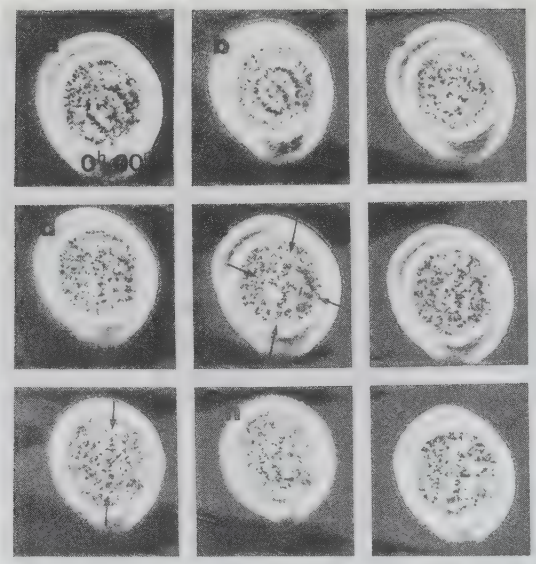


Abbildung 32: Photoserie der in Abb.31 c-h schematisch dargestellten Mitoseereignisse
a,b) Hohlspindel, die sich im frühen Prometaphasestadium (a) aus zwei voneinander durch einen Spalt getrennten Chromosomengruppen zusammensetzte;
c,d) Konfluieren der Hohlspindelchromosomen zur vierstrahligen Prometaphasenfigur (e); der Vergleich der Abb. b und c verdeutlicht, wie die geordnete Chromosomenkonfiguration der Hohlspindel innerhalb weniger Minuten in ein scheinbar völlig ungeordnetes Chromosomengewirr ('Konfluieren' der Chromosomen) überging, aus dem sich dann eine vierstrahlige Prometaphasenfigur allmählich entwickeln konnte (Pfeile in Abb. e kennzeichnen die Richtung der Strahlen).
e-g) Entstehung einer einstrahligen Äquatorialplatte durch 'Retraktion' von zwei gegenüberliegenden Strahlen.
h) Bis zur Entstehung der endgültigen, 'ruhenden' Metaphasenfigur zeigte die Äquatorialplatte noch diskrete Biegungs- und Streckbewegungen.

e9) HS konfl 4str - 1str Parallelmitose

Eine ähnliche Mitose wie in Abb.31/32 dargestellt fand sich auch in einer zweikernigen 8n-Zelle der euploiden Kultur (Abb.33). Auch hier konfluierten die Chromosomen zu einer Hohlspindel, aus der eine asymmetrische vierstrahlige Prometaphasenfigur hervorging. Die zwei gegenüberliegenden kürzeren Strahlen wurden langsam durch Anlagerung ihrer Chromosomen ('Retraktion') an die verbleibenden Strahlen aufgelöst, so daß schließlich eine einstrahlige vierpolige Parallelmitose entstand, aus der vier Tochterkerne mit dem relativen DNS-Gehalt von jeweils 4c hervorgingen.

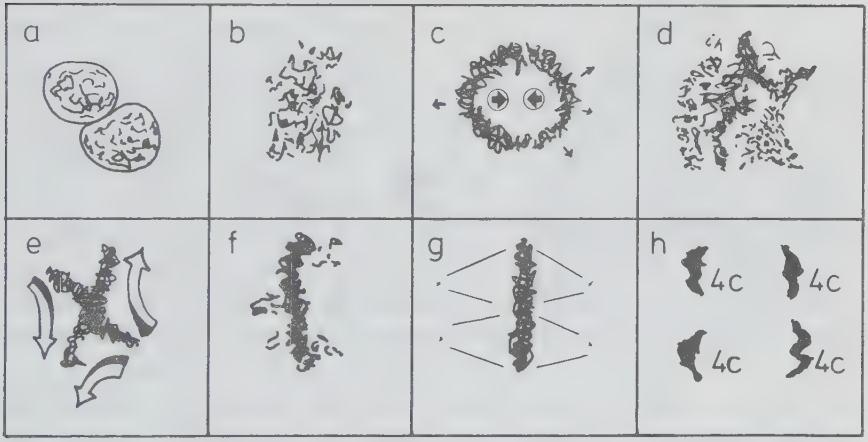


Abbildung 33: Schematische Darstellung der Entstehung einer einstrahligen vierpoligen Parallelmitose
(Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr. 126)
a) Prophase; b) frühe Prometaphase; c) Hohlspindel - die Pfeile kennzeichnen die Bewegungsrichtung der Chromosomen; d,e) Konfluieren der Chromosomen zu einer vierstrahligen Prometaphasenfigur; e-g) 'Retraktion': Entstehung einer einstrahligen Parallelmitose; h) Anaphase

e10) Konfl 4 Sterne - 4str - 3str

Ebenso wie während der Prometaphase der 'two-group metaphase' fanden sich auch in einer zweikernigen triploiden Zelle der euploiden Kultur sternförmige Figuren (Abb.34 b), aus denen eine vierstrahlige Prometaphasenfigur hervorging; eine zweite, kleinere Figur wie in der 'two-group metaphase' fand sich hier allerdings nicht. Die vierstrahlige Prometaphasenfigur wurde zur dreistrahligen Metaphase bzw. zweistrahligen V-Mitose umgeformt; genauere Beobachtungen konnten hier nicht gemacht werden. Die dreipolige Metaphasenfigur (e) führte zur Entstehung von drei Tochter-Telophasenteilen; in der späten Telophase fusionierten zwei dieser Chromosomengruppen miteinander, so daß schließlich zwei triploide Tochterkerne vorlagen.

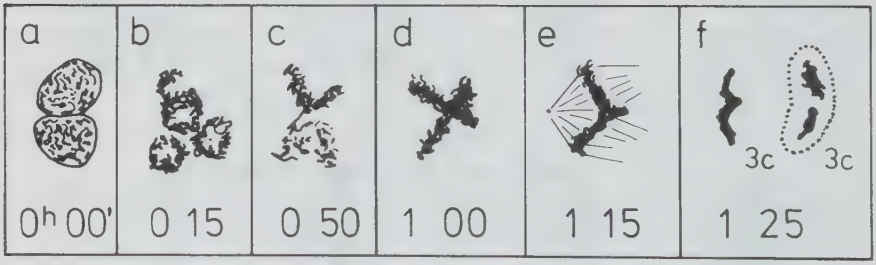


Abbildung 34: Schematische Darstellung der Entstehung einer dreipoligen dreistrahligen Metaphasenfigur (bzw. einer zweistrahligen V-Mitose?)
(Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr. 59)
a) Prophase; b) prometaphasische Sternfiguren, Kinetozentren waren hier nicht zu erkennen; c,d) vierstrahlige Prometaphasenfigur; e) Metaphase; f) späte Anaphase; die Punktierung kennzeichnet die in der späten Telophase fusionierten Schwesterchromosomengruppen.

III.13 f) Aufbau und Schicksal der Hohlspindel

Durch die Beobachtung verschiedener optischer Ebenen war es möglich, in lebenden Zellen Einblick in die räumliche Ausdehnung des mitotischen Apparates zu erhalten. In der Mehrzahl der Fälle waren diese Beobachtungen allerdings zu undeutlich, um mit ihrer Hilfe genauere Analysen des mitotischen Verhaltens einzelner Chromosomen anfertigen zu können. Jedoch erwiesen sich Lebendbeobachtungen von Hohlspindelfiguren als aufschlußreich in Bezug auf Veränderungen im Aufbau und in der Lage des Spindelapparates während aufeinanderfolgender Mitosestadien.

Die prometaphasische Hohlspindel zeigte in der Regel einen gerade noch erkennbaren dreidimensionalen Aufbau, d.h. es gab Chromosomen, die über oder unter der ringförmigen Hauptäquatorialplatte gelegen waren, so daß die Hohlspindel in Wirklichkeit die Form eines an den Enden offenen Hohlzylinders aufwies (Abb.36B a); in fixierten und gefärbten Präparaten konnte diese Konfiguration wegen der Abflachung der Zellen während des Fixierungsvorganges nicht beobachtet werden.

Der Übergang von der prometaphasischen Hohlspindel zur metaphasischen Äquatorialplatte war stets mit einem Formwechsel verbunden: Aus der kranzförmigen Anordnung der Chromosomen wurde eine einstrahlige balkenförmige oder - im Fall der mehrstrahligen multipolaren Mitosen - eine sternförmige Anordnung. Zwischen diesen beiden symmetrischen Chromosomenformationen mit hohem Ordungsgrad lag jedoch stets eine kurze mitotische Zwischenphase, in der die Chromosomen völlig regellos über die Innenfläche der Hohlspindel oder (seltener) über das gesamte Cytoplasma verstreut zu sein schienen. Dieses bei der Besprechung der verschiedenen Mitosevarianten mit 'Konfluieren der Chromosomen' umschriebene Übergangsstadium lief stets nach demselben Muster ab: Die anfangs noch gut erkennbare Hohlspindel wurde innerhalb von ein bis drei Minuten in ihren Konturen diffuser und weniger scharf gegen die Umgebung abgegrenzt: Zuerst bewegten sich nur einzelne, schließlich aber die meisten Chromosomen scheinbar regellos auf das Hohlspindelzentrum zu; nur wenige Chromosomen ließen jedoch hierbei Bewegungen in zentrifugaler Richtung erkennen. Bei diesem Vorgang wurde die

Einheit der Hohlspindel aufgelöst, und bald fand sich an ihrer Stelle ein für den Beobachter beim Vergleich mit der Hohlspindelformation regelloses Chromosomengewirr. Im Fall einer sich später bildenden einstrahligen bipolaren Mitose ordneten sich die Chromosomen bald zu einem immer schmaler werdenden Chromosomenband, das schließlich zur charakteristischen einstrahligen Metaphasenfigur verschmälert wurde; ähnliche, teilweise jedoch komplexere Chromosomenbewegungen fanden sich auch bei der Entstehung mehrstrahliger und mehrpoliger Mitosen.

Von fixierten und gefärbten Hohlspindeln ist bekannt, daß im Hohlspindelzentrum Centriolen liegen können (PERA, 1974, 1975; PERA und SPERLING, 1976); ob diese Centriolen jedoch über, unter oder in der Äquatorialebene gelegen sind, wird aus fixierten Präparaten nicht mit Sicherheit ersichtlich, da die fixierten Zellen gewöhnlich für entsprechende Untersuchungen zu flach sind. In der Lebendbeobachtung ließ sich indes verfolgen, daß die Längsachse der definitiven Metaphasenfigur nicht senkrecht auf der Deckglasebene stand (wie es das Hohlspindelmodell eigentlich impliziert) sondern vielmehr parallel zur Beobachtungsebene verlief. Dieser Übergang aus der vermuteten Vertikalen (Richtung der Längsachse der prometaphasischen Hohlspindel) in die Horizontale (Achsenrichtung der definitiven Metaphasenfigur) wird allgemein mit dem sogenannten 'Kippen' des Spindelapparates um 90^{o} erklärt, wobei der Mechanismus des Kippvorganges jedoch nicht näher bekannt ist. Die bei der Entstehung einstrahliger bipolarer Metaphasenfiguren diploider und polyploider Zellen gemachten Beobachtungen widersprechen diesem Modell nicht: In Abb.35 sind die schematisiert wiedergegebenen Lebendbeobachtungen des Übergangs vom prometaphasischen Hohlspindelstadium zur einstrahligen Metaphasenfigur (obere Abbildungen) dem Modell des jeweiligen Spindelverhaltens (untere Abbildungen) gegenübergestellt. Nach dieser Modellvorstellung läßt sich das in der Lebendbeobachtung verfolgte 'Konfluieren' der Chromosomen mit dem Kippen der Spindel und dem daraus folgenden Kleinerwerden der in der Aufsicht zweidimensionalen Hohlspindelinnenfläche erklären (Abb.35 b,c).

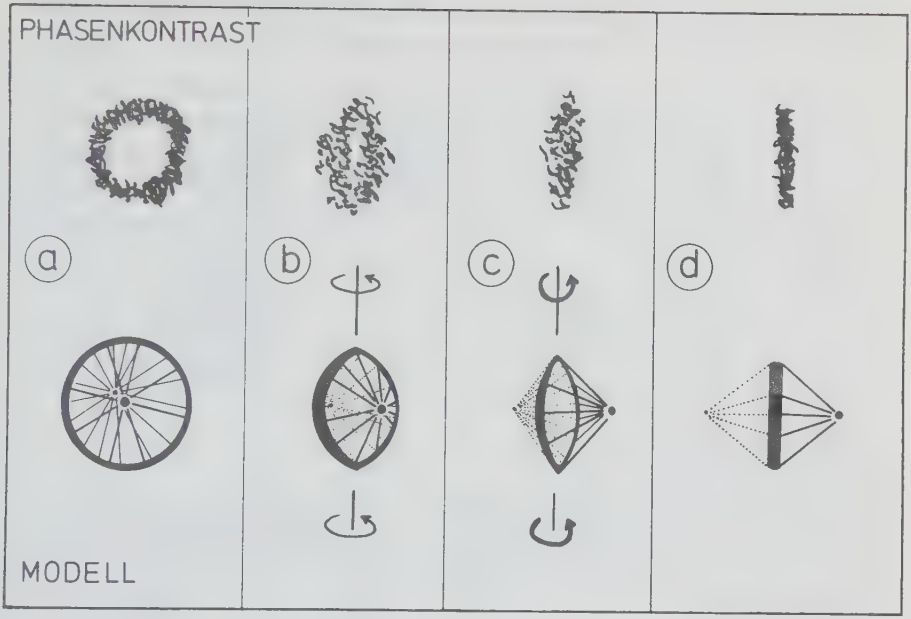


Abbildung 35:

Kipp-Modell: Übergang von der prometaphasischen Hohlspindel (a) zur metaphasischen Äquatorialplatte (d)
Obere Abbildungen: Schematische Darstellung der in der Lebendbeobachtung verfolgten Mitosestadien
Untere Abbildungen: Interpretation der entsprechenden Chromosomenkonfigurationen nach dem Kipp-Modell

a) Aufsicht auf die Hohlspindel: Die Chromosomen sind kranzförmig angeordnet; die beiden Spindelpole liegen über (großer Punkt) und unter (kleiner Punkt) der Äquatorialebene.

b,c) Kippen des Spindelapparates: Ohne daß die Chromosomen ihre relative Position zueinander im Hohlspindelring aufgeben, dreht sich die ganze Spindelfigur aus der Vertikalen in die Horizontale (Pfeile geben die Drehrichtung an). Das Bild vom 'Konfluieren' der Chromosomen in Richtung Hohlspindelzentrum kommt dadurch zustande,

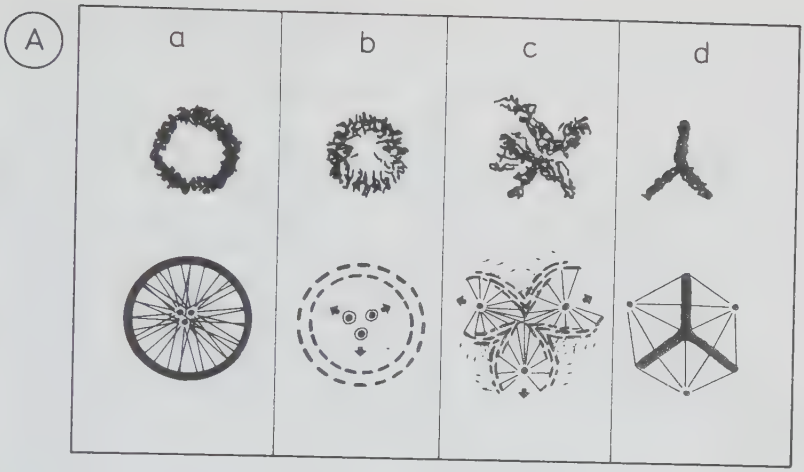
daß in der Lebendbeobachtung die weiter unten gelegenen Chromosomen auf die oben gelegenen Chromosomen projiziert werden.

d) Einstrahlige bipolare Metaphasenfigur: Der Kippvorgang ist abgeschlossen; die Längsachse der Spindelfigur liegt parallel zur Beobachtungsebene. In diesem Stadium läßt sich nicht mehr feststellen, ob die Äquatorialebene noch von einer ringförmigen (Hohlspindel) oder evtl. von einer balkenförmigen Metaphasenfigur ausgefüllt wird.

Abbildung 36 A und B:

Zweidimensionales Hohlspindelmodell (Einteilung wie in Abb.35)
A) Aufsicht; B) Seitenansicht: Aus Übersichtsgründen wurde hier die Entstehung einer einstrahligen bipolaren Metaphasenfigur gewählt.

a) Alle Centriolen (Spindelpole) liegen in der Äquatorialebene; da die Hohlspindel nicht ganz flach ist, können die Pole in ihrer räumlichen Anordnung sogar leichte Höhendifferenzen aufweisen, ohne daß der Ablauf der Mitose hierdurch wesentlich beeinträchtigt wird.
b,c) Die Spindelpole bewegen sich in zentrifugaler Richtung (Pfeile!); gleichzeitig werden Chromosomen mitgezogen, und es entsteht das Bild vom 'Konfluieren' der Chromosomen in Richtung Hohlspindelzentrum.
d) Die Spindelpole haben ihre endgültige Position in der Peripherie erreicht. Chromosomen und Spindelpole liegen in derselben Äquatorialebene (d) wie zu Beginn der Umgruppierungsvorgänge (a).
Das Einordnen der prometaphasischen Hohlspindelchromosomen in die endgültige mehrstrahlige Metaphasenfigur ist in diesem Stadium beendet; diskrete Pendelbewegungen der Figurstrahlen sind jedoch noch möglich.



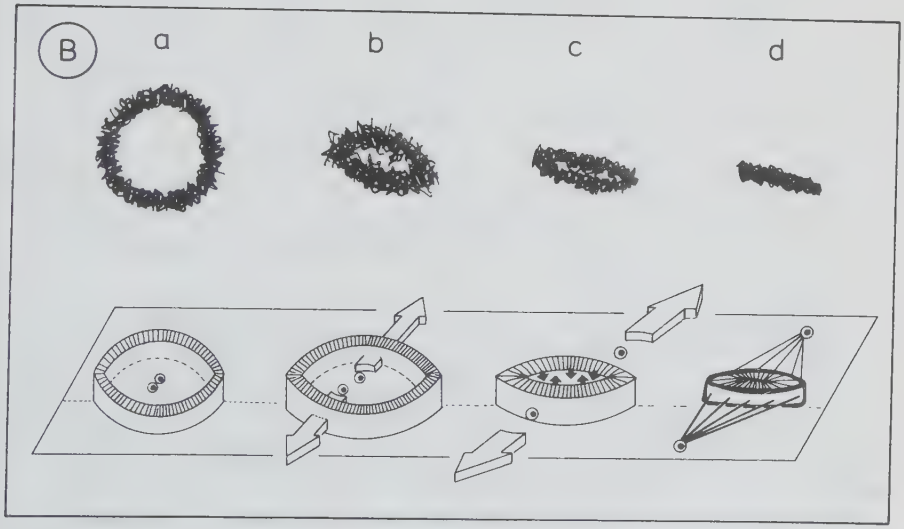


Abbildung 36 A und B

Erläuterungen: siehe nebenstehende Seite

Andererseits lassen aber das größtenteils völlig regellose Chromosomengewirr (vgl. auch Abb.32 c,d) und die beim vermuteten Kippvorgang in der Regel vermißte dreidimensionale Ausdehnung der Äquatorialplatte an einen anderen Mechanismus denken (Abb.36 A,B).

Beim Vergleich des Entstehungsvorgangs einstrahliger bipolarer Mitosen mit der durch Konfluieren von Hohlspindelchromosomen eingeleiteten Bildung mehrstrahliger Metaphasenfiguren fanden sich mehrere Gemeinsamkeiten: Stets lag die nach Auflösung der Hohlspindelformation erkennbare, ungeordnete Chromosomengruppe in einer einzigen optischen Ebene; nur wenige Chromosomen bewegten sich über die Grenzen der ehemaligen Hohlspindelperipherie hinaus (zentrifugale Bewegung). Umbildungsvorgänge der Metaphasenfigur erfolgten, so weit eine genaue Beobachtung hier überhaupt möglich war, in derselben optischen Ebene.
Diese Beobachtungen legen nahe, daß zumindest bei der Entstehung mehrstrahliger mehrpoliger Metaphasenfiguren (möglicherweise auch einstrahliger bipolarer Mitosen) die Hohlspindel nicht kippt sondern sich langsam durch Konfluieren der Chromosomen in einer einzigen Äquatorialebene auflöst (Abb.36 A,B). Es ist denkbar, daß die in der Äquatorialebene gelegenen Centriolen vom Hohlspindelzentrum aus eine zentrifugale Bewegungsrichtung einschlagen und dabei jeweils Chromosomen mitziehen. Das 'Chromosomengewirr' wäre in diesem Fall durch Zug und Gegenzug der verschiedenen Spindelpole zu erklären.
In den Abbildungen 35 und 36 A/B sind die beiden Modelle der dreidimensionalen, kippenden und der zweidimensionalen, konfluierenden Hohlspindel gegenübergestellt. Die Ergebnisse der Lebendbeobachtung sprechen in ihrer Mehrzahl zwar für den in Abb.36 dargestellten Mechanismus des prometaphasischen Hohlspindelverhaltens, jedoch soll nicht ausgeschlossen werden, daß vor allem das Verhalten der (in der Lebendbeobachtung nicht sichtbaren) Centriolen völlig anders sein kann als hier erörtert.

III.13 g) Restitutionskerne

Die Mitosen von vier zweikernigen Zellen der euploiden (1) und der aneuploiden Kultur (3) zeigten Störungen, die einen Abbruch des Mitoseablaufs in der Prometaphase und die Bildung zahlreicher Restitutionskerne zur Folge hatten: Am Ende der Interphase bewegten sich die beiden stets außergewöhnlich großen Zellkerne entweder direkt aufeinander zu, oder sie ließen Pendelbewegungen erkennen, die erst nach mehr als zehn Stunden durch den Beginn der Mitose beendet wurden (Tabelle 1: zweikernige Zelle Nr.71 Während der Prophase gingen die Zellen von der flachen in eine charakteristische tropfenförmige Gestalt über; die sich im Prometaphasestadium intensiv bewegende Zelle war schließlich nur noch mit einem dünnen Cytoplasmastück am Deckgläschen angeheftet, so daß Beobachtungen der Chromosomenbewegungen im stark lichtbrechenden Zellinnern nicht mehr möglich waren. Diese Phase dauerte mehrere Stunden (140 min / 420 min / ca. 200 min / ca. 180 min) und wurden stets dadurch beendet, daß die Zellen unter für die in der Lebendbeobachtung verfolgten Lungenfibroblasten außergewöhnlich intensiven amöboiden Bewegungen wieder ihre flache Form annahmen. Chromosomen waren jetzt nicht mehr zu erkennen, stattdessen wurden im Lauf der sich anschließenden mehrstündigen Beobachtung in jeder Zelle zahlreiche Kerne und Mikrokerne sichtbar, die sich in Größe und Ploidie voneinander unterschieden. Die Größe und die enge räumliche Beziehung der einzelnen Kerne gestatteten keine exakten Messungen des relativen DNS-Gehalts; die überschlagsmäßigen Messungen zeigten jedoch, daß die Summe des relativen DNS-Gehalts der Tochterkerne sehr groß war: größer als 30c / größer als 40c / 25 - 35c / die vierte Zelle war hoch-polyploid; genauere Messungen waren hier nicht möglich.

Diese Beobachtungen abortiver Mitosen können als Folge einer unterdrückten oder gestörten Spindelbildung interpretiert werden. Ähnliche Vorgänge beobachteten HSU und MOOREHEAD (1956), die in HeLa-Zellen Polyploidisierungsvorgänge durch pro-, meta- und anaphasische Restitution feststellten. WILSON und LEDUC (1948) beschrieben vergleichbare Mitosegeschehnisse in zweikernigen Leber-

zellen. YAMANAKA und OKADA (1968) verfolgten zweikernige Zellen, die ebenso wie die beobachteten Lungenfibroblasten der Erdmaus mehrere Stunden lang in einem Mitosestadium verharrten, ohne schließlich die Zellteilung zu beenden. BARBER und CALLAN (1943) faßten diese Mitosestörungen unter dem Begriff 'ball metaphase' zusammen, die sie als Form der C-Mitose betrachteten; die 'ball metaphase' führte entweder zum Zelltod oder zur Bildung einer lebensfähigen Zelle. HENEEN (1970) schließlich stellte fest, daß selbst multipolare Spindelfiguren zur Bildung von Restitutionskernen führen können.

Diese Untersuchungen legen es nahe, die beobachteten abortiven Mitosen von Microtus-Fibroblasten als C-Mitosen zu interpretieren: Die Unfähigkeit der hoch-polyploiden Zellen, einen funktionstüchtigen Spindelapparat auszubilden, führte zur Bildung zahlreicher, in der prometaphasischen Äquatorialebene gelegener Chromosomengruppen unterschiedlicher Größe, die später jeweils von einer gemeinsamen Kernmembran umgeben wurden.

Obwohl die einzelnen, auf die Prometaphase folgenden Mitosegeschehnisse nicht beobachtet werden konnten, scheint es doch gerechtfertigt, hier von einer Unfähigkeit zur Bildung eines funktionstüchtigen Spindelapparates zu sprechen, zumal die stets zu beobachtenden Veränderungen des Zelleibes im Anaphase-Telophase-Zeitraum in diesen Zellen vermißt wurden, und ein Liegenbleiben der Chromosomen in der Prometaphasengruppe aufgrund der Beobachtungen wahrscheinlich ist.

Andererseits sollte hier aber auch die Existenz einer multipolaren Mitose mit gestörter Spindelfunktion in Erwägung gezogen werden. Diese (allerdings sehr unwahrscheinliche) Mitoseform würde der von HENEEN (1970) beschriebenen multipolaren Mitose mit folgender Bildung von Restitutionskernen entsprechen.

III.14. Langzeitbeobachtungen

Das Schicksal der Tochterzellen multipolarer Mitosen schwankt zwischen sofortigem Zelltod und einem sich wiederholenden multipolaren oder bipolaren Teilungszyklus (SISKEN und KINOSITA, 1961). Um weitere Aufschlüsse über das Schicksal der Tochterzellen multipolarer Mitosen, polyploider Zellen und mehrkerniger Zellen zu erhalten, wurden insgesamt 32 zweikernige Zellen der euploiden und der aneuploiden Kultur über einen längeren Zeitraum beobachtet, der in der Regel den Zellzyklus sämtlicher Tochterzellen der zweikernigen Mutterzelle umspannte. Zwei zweikernige Zellen und ihre Teilungsprodukte wurden über zwei aufeinanderfolgende Zellzyklen verfolgt. Die Beobachtungen dauerten gewöhnlich nicht länger als 35 Stunden; eine Beobachtung erstreckte sich über einen Zeitraum von drei Tagen. Die Stammbäume der beobachteten zweikernigen Zellen und ihrer Tochter- und Enkelzellen sind in den Abbildungen 37 - 57 schematisch wiedergegeben. In den Abbildungen 37 - 57 wurden auch Spindelpole, Spindelfasern, sowie teilweise Centriolen bzw. Diplosomen eingezeichnet.

Im Phasenkontrast sind Spindelpole und Mitosespindeln nicht zu erkennen; sie werden hier jedoch aufgeführt, um die Entstehung multipolarer Mitosen anhand dieser Schemata theoretisch erörtern zu können (s. Diskussion). Dabei wird davon ausgegangen, daß ein diploider Interphasekern ein Centriol und ein diesem im rechten Winkel anliegendes, noch 'unreifes' Tochtercentriol (Procentriol bzw. 'subunit') besitzt; beide Strukturen zusammen werden als Diplosom bezeichnet. Im Laufe der Interphase reift das Procentriol, so daß zu Beginn der folgenden Prophase zwei 'reife' Centriolen vorhanden sind, die beide schon ein neues Procentriol erkennen lassen. Je ein Centriol zusammen mit seinem Procentriol liegt im Zentrum einer Polregion. Diese elektronenmikroskopisch gesicherten Centriolenverhältnisse im Zentrum der Spindelpole bipolarer Mitosen werden in den multipolaren Mitosen der Abbildungen 37...44 schematisiert wiedergegeben, obwohl derartige Centriolenkombinationen bei multipolaren Mitosen bisher nicht bewiesen sind (vgl. BERNS et al., 1977). Detaillierte elektronenmikroskopische Untersuchungen der Polregionen multipolarer Mitosen liegen noch nicht vor. Centriolen wurden in den Abbildungen als Striche, reife oder unreife Procentriolen (Tochtercentriolen, subunits) als Punkte dargestellt.

Da im Phasenkontrast die Anaphase besonders gut erkennbar ist, wurde sie als Fixpunkt für die Zellzyklusbestimmung gewählt. Die Zeitangaben für die Zellzyklusdauer einer bestimmten Zelle wurden

stets durch Messung des Anaphase-Anaphase-Zeitraums gewonnen. Die Ploidie der Mutterzellen wurde in allen Fällen aus dem relativen DNS-Gehalt der Enkelzellen errechnet; aus diesem Grund sind die (indirekt ermittelten) Ploidieangaben stets in Klammern angeführt; z.B. (tetraploid).

III.14 a) Langzeitbeobachtungen 1 - 10 (Abbildung 37)

In acht Fällen konnte beobachtet werden, wie sich eine zweikernige Zelle durch einstrahlige bipolare Mitose in zwei einkernige Tochterzellen teilte, aus denen wiederum je zwei Tochterzellen (die hier im folgenden stets als Enkelzellen bezeichnet werden) durch bipolare Teilung hervorgingen.

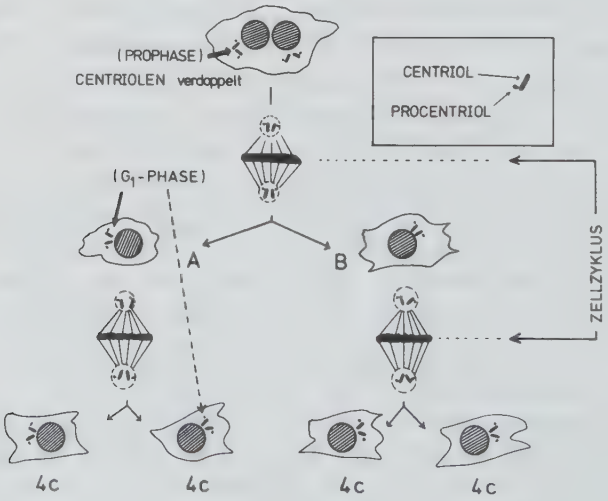


Abbildung 37: Langzeitbeobachtungen 1 - 10
Schematische Darstellung des Spindelapparates (und der theoretisch möglichen Centriolenverhältnisse) und Ergebnisse der Bestimmung des relativen DNS-Gehalts

In vier Fällen (Zellen der euploiden Kultur) konnte der relative DNS-Gehalt aller Enkelzellen cytophotometrisch bestimmt werden; er betrug jeweils 4c. Die Enkelzellen waren somit alle tetraploid. Der rückgerechnete Ploidiegrad der zweikernigen Mutterzelle und ihrer einkernigen Tochterzellen war mit großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls tetraploid.
In weiteren zwei beobachteten Fällen starb jeweils eine der beiden einkernigen Tochterzellen mehrere Stunden nach der Mitose ab, während ihre einkernige Schwesterzelle sich in zwei einkernige Tochterzellen (d.h. hier Enkelzellen) teilte, ohne erkennbare Anomalien des Mitoseablaufs erkennen zu lassen. Auch hier betrug der relative DNS-Gehalt der zwei Enkelzellen jeweils 4c.
Die Zellzykluszeiten der insgesamt 18 während ihres Zellzyklus verfolgten einkernigen (tetraploiden) Tochterzellen bipolarer (tetraploider) Mitosen sind in der folgenden Tabelle 24 aufgeführt.

Tabelle 24: Zellzykluszeiten einkerniger tetraploider Tochterzellen bipolarer Mitosen zweikerniger Zellen. Zeitangaben in Stunden

	Zyklusdauer der beiden einkernigen tetraploiden Schwesterzellen bipolarer Mitosen		
	ZELLE A	ZELLE B	
Euploide Kultur			
Tab.1 Nr. 31/32	14.60	18.75	
Nr. 29/30	12.25	14.58	
Nr. 39/40	14.33	16.00	
Nr. 41/42	14.08	15.92	
Nr. 46/47	15.45	17.16	
Nr. 23/24	15.33	14.00	(Zelltod)
Nr. 33/-	15.80	13.30	(Zelltod)
Aneuploide Kultur			
Tab.1 Nr. 1/2	9.95	11.38	
Nr. 3/4	15.12	15.75	
Nr. 7/8	10.22	12.00	

III.14 b) Langzeitbeobachtung 11 (Abbildung 38)

Zweikernige (tetraploide) Zelle der euploiden Kultur (Tabelle 1, Nr.109): Die Zelle teilte sich durch einstrahlige bipolare Mitose in zwei einkernige (tetraploide) Tochterzellen A und B. Tochterzelle A teilte sich durch einstrahlige bipolare Mitose in zwei einkernige Enkelzellen mit dem relativen DNS-Gehalt 4c. Aus der Tochterzelle B gingen durch vierstrahlige vierpolige Mitose vier einkernige Enkelzellen mit dem relativen DNS-Gehalt von je 2c hervor.
Somit entstanden aus einer zweikernigen Zelle schließlich zwei tetraploide und vier diploide einkernige Enkelzellen.
Zellzyklus der Tochterzelle A: 18.36 h (Nr.34)
Zellzyklus der Tochterzelle B: 19.36 h (Nr.35)

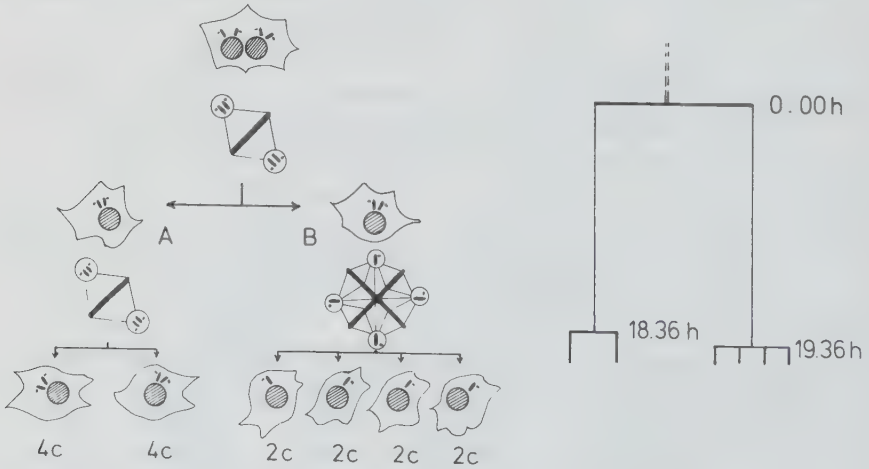


Abbildung 38: Langzeitbeobachtung der Zelle Nr. 109
Links mit schematischer Darstellung des Spindelapparates (und der vermutlichen Centriolenverhältnisse) und Ergebnissen der Bestimmung des relativen DNS-Gehalts; rechts zeitproportionale Darstellung der Zyklusdauer der Tochterzellen.

III.14 c) Langzeitbeobachtung 12 (Abbildung 39)

Die zweikernige (tetraploide) Zelle der euploiden Kultur (Tab.1, Nr.110) teilte sich durch dreistrahlige, vermutlich vierpolige Mitose in zwei (diploide) einkernige Tochterzellen A und B und in eine einkernige (tetraploide) Tochterzelle C. Der Kern der Tochterzelle C entstand am Ende der Telophase durch Fusion von zwei telophasischen Chromosomengruppen, die ursprünglich getrennt waren und schließlich von einer gemeinsamen Kernmembran umgeben wurden. Tochterkern C war in der Mitte leicht hantelförmig eingebuchtet.
Die einkernige (diploide) Tochterzelle A teilte sich durch einstrahlige bipolare Mitose in zwei einkernige Enkelzellen mit dem relativen DNS-Gehalt von jeweils 2c. Die einkernige (diploide) Tochterzelle B teilte sich durch einstrahlige bipolare Mitose in zwei einkernige Enkelzellen (rel.DNS-Gehalt jeweils 2c); aus der einkernigen (tetraploiden) Tochterzelle C gingen durch dreistrahlige dreipolige Mitose drei einkernige Enkelzellen mit dem relativen DNS-Gehalt 2c, 2c und 4c hervor.
Aus der (tetraploiden) Mutterzelle entstanden somit eine tetraploide und sechs diploide einkernige Enkelzellen.

Zellzyklus der Tochterzelle A: 15.25 h (Nr.43)
Zellzyklus der Tochterzelle B: 14.00 h (Nr.44)
Zellzyklus der Tochterzelle C: 11.25 h (Nr.45)

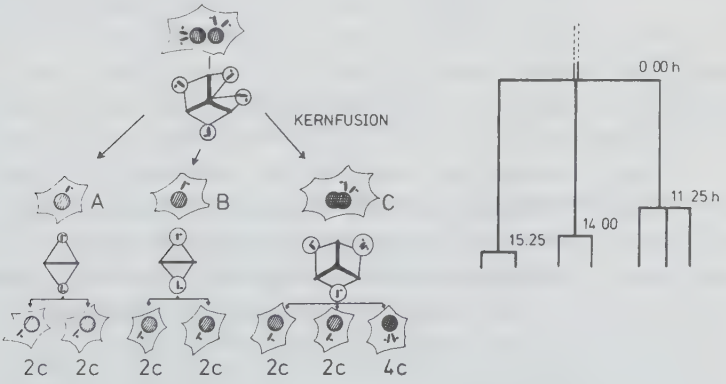


Abbildung 39: Langzeitbeobachtung der Zelle Nr. 110
Einteilung wie Abb.38

III.14 d) Langzeitbeobachtung 13 (Abbildung 40)

Die zweikernige Zelle der aneuploiden Kultur (Tab.1, Nr. -) teilte sich durch einstrahlige vierpolige Mitose (Parallelmitose) in zwei zweikernige Tochterzellen. In der Lebendbeobachtung konnte nur eine der beiden zweikernigen Tochterzellen weiterverfolgt werden. Diese Tochterzelle teilte sich durch eine drei-, evtl. auch mehrstrahlige achtpolige Mitose in vier Enkelzellen. Enkelzellen A und B waren einkernig; Enkelzelle C war zweikernig und Enkelzelle D vierkernig mit mehreren Mikrokernen, deren genaue Zahl im Phasenkontrast nicht ermittelt werden konnte.
Aus Enkelzelle A gingen durch einstrahlige bipolare Mitose zwei einkernige Zellen mit dem relativen DNS-Gehalt 6c und 6^+c hervor. Enkelzelle B teilte sich durch dreistrahlige mehrpolige Mitose (genaue Zahl der Spindelpole nicht feststellbar, da wahrscheinlich mehrere Kernfusionen erfolgten) in eine zweikernige Zelle (rel. DNS-Gehalt 1^+c und 1^+c) und in eine dreikernige Zelle (rel. DNS-Gehalt 1^+c, 4^+c und 4c). Die zweikernige Zelle mit den beiden ungefähr haploiden Kernen war lebensfähig.
Enkelzelle C teilte sich durch vierstrahlige fünfpolige Mitose in eine einkernige Zelle (rel. DNS-Gehalt 3^+c) und in zwei zweikernige Zellen (rel. DNS-Gehalt 4c / 4^+c und 5c / 7c).
Die vierkernige Enkelzelle D wurde 15.58 Stunden nach ihrer Entstehung fixiert; zu diesem Zeitpunkt ließ sie noch keine Anzeichen einer bevorstehenden mitotischen Kernteilung erkennen. Der rel. DNS-Gehalt ihrer Kerne betrug 8c, 8c, 9c, 11c (und drei nicht meßbare Mikrokerne). Der rel. Gesamt-DNS-Gehalt aller Kerne zum Zeitpunkt 28.50 h betrug 84c.
Es fiel auf, daß zwischen den mitotischen Teilungen der Enkelzellen A,B und C ein verhältnismäßig hoher Synchroniegrad herrschte (innerhalb von ca. 80 Minuten (!) gingen die drei Enkelzellen in Mitose); in vergleichbaren Schwesterzellkonstellationen lag der Mitosebeginn der einzelnen Zellen stets wesentlich weiter auseinander.

Zyklusdauer der zweikernigen Tochterzelle:	12.92 h	(Nr.203)
Zyklusdauer der Enkelzelle A:	13.50 h	(Nr.9)
Zyklusdauer der Enkelzelle B:	14.53 h	(Nr.10)
Zyklusdauer der Enkelzelle C:	14.41 h	(Nr.204)

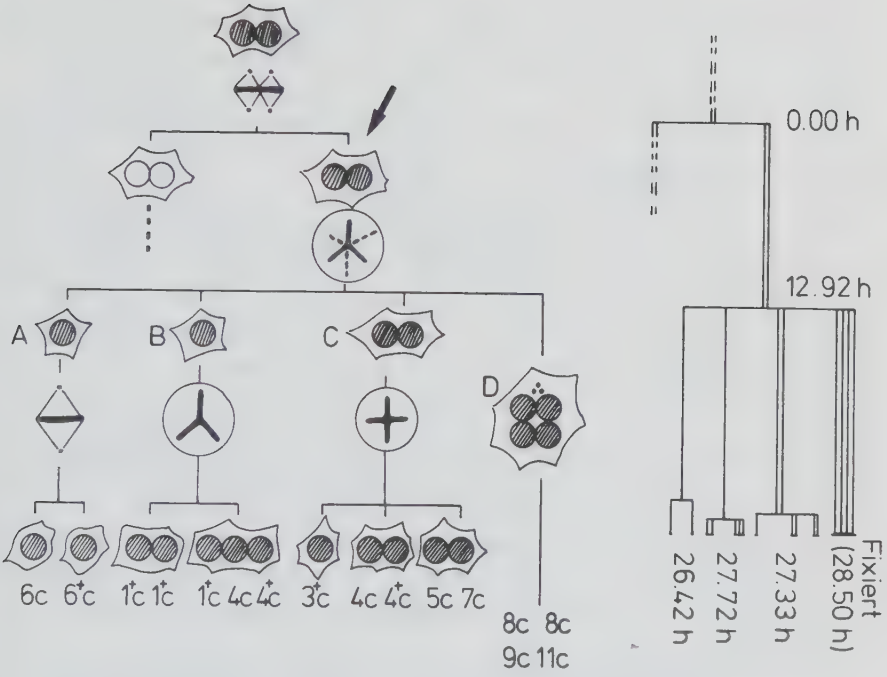


Abbildung 40: Langzeitbeobachtung 13 der Zelle Nr. 203 (Pfeil!)
Einteilung wie Abb.38
Zum Zeitpunkt der Fixierung hatte sich die Enkelzelle D noch nicht geteilt. Der rel. Gesamt-DNS-Gehalt betrug zu diesem Zeitpunkt 84c. Die Bestimmung der Ploidie von Mutter- und Tochterzellen durch Rückrechnen(Division des rel. Gesamt-DNS-Gehalts der letzten Generation durch 8 bzw. 4) war wegen Enkelzelle D, deren Zyklusstadium unbekannt war, nicht möglich.

III.14 e) Langzeitbeobachtung 14 (Abbildung 41)

Die zweikernige Zelle der aneuploiden Kultur (Tab.1, Nr.210) teilte sich durch einstrahlige dreipolige Mitose (Parallelmitose) in eine zweikernige Tochterzelle A und in eine einkernige Tochterzelle B, die neben dem Haupt-Zellkern noch einen größeren Mikrokern erkennen ließ.
Aus der Tochterzelle A gingen durch einstrahlige bipolare Mitose zwei einkernige Enkelzellen mit dem relativen DNS-Gehalt 3c und 3c hervor. Da diese Zellen erst 9.72 Stunden nach der Anaphase fixiert wurden, ist es möglich, daß beide Zellkerne zum Zeitpunkt der Fixierung schon die G_1-Phase durchlaufen und die S-Phase begonnen hatten. In diesem Fall hätte in beiden Zellkernen (sofern ihre Ploidie identisch war) ein synchroner DNS-Synthesevorgang stattgefunden, da der relative DNS-Gehalt in beiden Kernen derselbe war.
Die Tochterzelle B teilte sich durch zwei- oder dreistrahlige vierpolige Mitose in zwei einkernige Enkelzellen (rel. DNS-Gehalt 2c und 4c + drei Mikrokerne) und in eine zweikernige Enkelzelle, deren Kerne jeweils den relativen DNS-Gehalt 1c hatten.
Die Chromosomen des Mikrokerns der Tochterzelle B wurden zu Beginn der Prometaphase in die gemeinsame Prometaphasengruppe integriert und nahmen, soweit erkennbar, an der Bildung der gemeinsamen Metaphasenfigur teil.
Die diploide zweikernige Enkelzelle (1c / 1c) war lebensfähig.
Die Fixierung der Enkelzellen erfolgte zum Zeitpunkt 28.30 h.

Zyklusdauer der Tochterzelle A:	18.58 h	(Nr.211)
Zyklusdauer der Tochterzelle B:	26.92 h	(Nr. 6)

III.14 f) Langzeitbeobachtung 15 (Abbildung 42)

Die zweikernige (tetraploide) Zelle der euploiden Kultur (Tab.1, Nr.108) teilte sich durch einstrahlige vierpolige Mitose (Parallelmitose? - Vgl. hierzu Abbildung 9) mit nachfolgender Tochterkernfusion von je zwei benachbarten Schwesterchromosomengruppen in zwei einkernige (tetraploide) Tochterzellen, die nach ungefähr 5.0 h miteinander fusionierten. Ob es sich hierbei um eine echte oder nur um eine Pseudofusion handelte, konnte nicht eindeutig geklärt

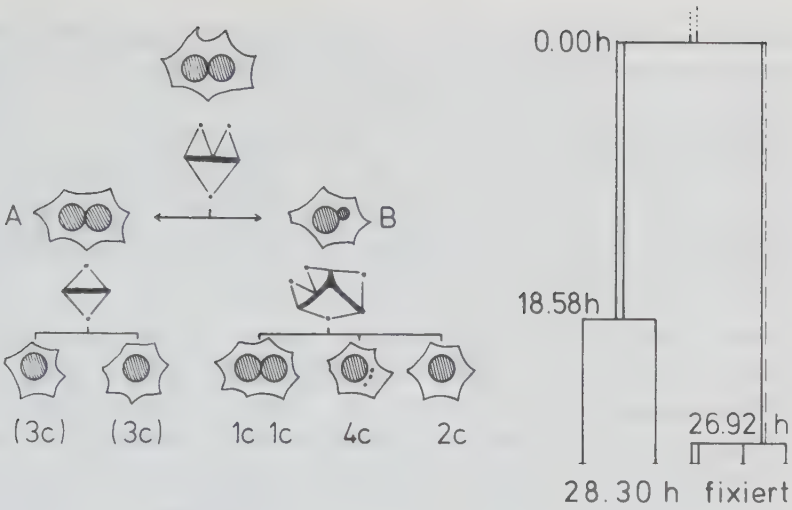


Abbildung 41: Langzeitbeobachtung 14 der Zelle Nr. 210
Einteilung wie Abb.38

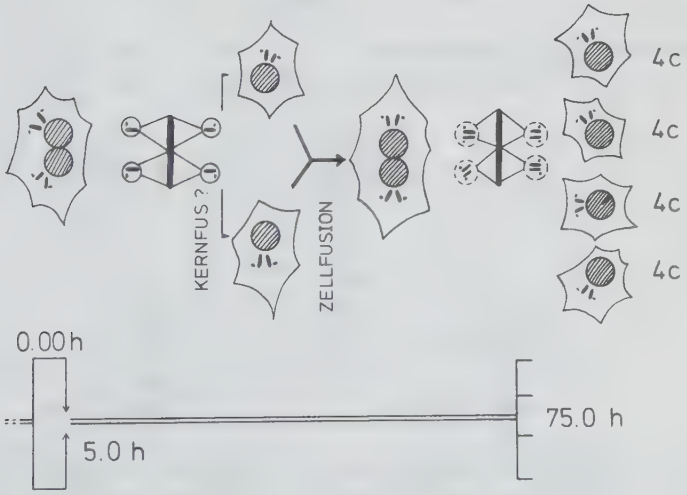


Abbildung 42: Langzeitbeobachtung 15 der Zelle Nr.108
Einteilung wie Abb.38

werden, da die Existenz von zwei kleinen Cytoplasmabrücken zwischen den beiden Schwesterzellen in der frühen Interphase nicht ausgeschlossen werden konnte. Die durch Schwesterzellfusion entstandene zweikernige (8n) Zelle trat erst außergewöhnlich spät in die nächste Mitose ein: Nach synchronem Beginn der Prophase in beiden Kernen teilte sie sich erst nach ca. 75.00 Stunden durch einstrahlige vierpolige Mitose (Parallelmitose) in vier einkernige Enkelzellen mit dem relativen DNS-Gehalt von jeweils 4c.

III.14 g) Langzeitbeobachtung 16 (Abbildung 43)

Die zweikernige (triploide) Zelle der euploiden Kultur (Tab.1, Nr. 107) teilte sich durch einstrahlige bipolare Mitose in zwei einkernige (tetraploide und diploide) Tochterzellen A und B.
Die Tochterzelle A teilte sich in zwei einkernige Enkelzellen mit dem rel. DNS-Gehalt von jeweils 4c.
Aus der Tochterzelle B gingen durch einstrahlige bipolare Mitose ebenfalls zwei einkernige Enkelzellen hervor, deren rel. DNS-Gehalt jedoch nur jeweils 2c betrug.

Zyklusdauer der Tochterzelle A: 19.00 h (Nr. 36)
Zyklusdauer der Tochterzelle B: 20.00 h (Nr. 37)

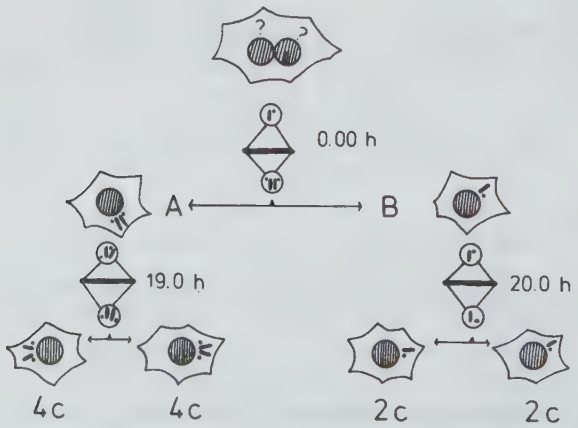


Abbildung 43: Langzeitbeobachtung 16 der Zelle Nr. 107

III.14 h) Langzeitbeobachtung 17 (Abbildung 44)

Hierbei handelt es sich um eine außergewöhnliche Langzeitbeobachtung (Entstehung haploider Enkel-Zellkerne; vgl. auch Kap.III.26.) deren Aussagekraft möglicherweise jedoch durch ungenaue Messungen des rel. DNS-Gehalts gemindert wird. Obwohl die cytophotometrischen Messungen mehrmals durchgeführt wurden, schwankten die gemessenen Werte teilweise erheblich, so daß jeweils ein Mittelwert errechnet werden mußte. Die so gewonnenen Werte des relativen DNS-Gehalts waren jedoch gut miteinander vergleichbar: Bis auf eine Ausnahme (2c) lagen sie alle im 1c (!)-Bereich.

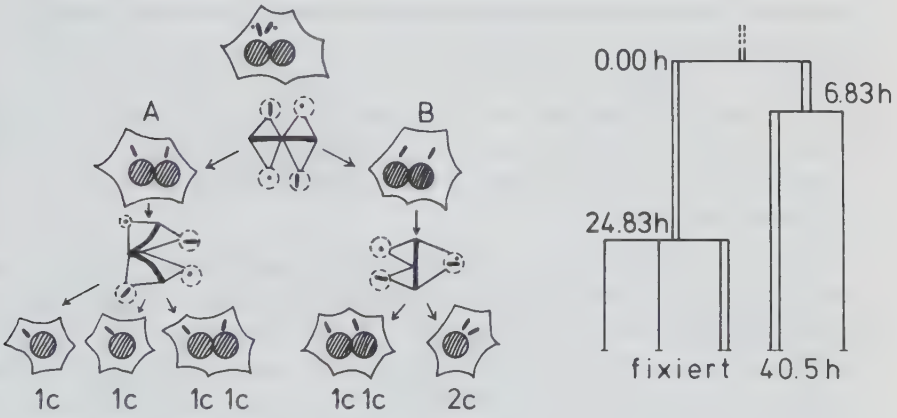


Abbildung 44: Langzeitbeobachtung 17 der Zelle Nr. 207
Einteilung wie Abb.38

Die zweikernige (diploide ?) Zelle der aneuploiden Kultur (Tab.1, Nr. 207) teilte sich durch einstrahlige vierpolige Mitose (Parallelmitose) in zwei zweikernige Tochterzellen A und B. Die errechnete Gesamt-Ploidie der beiden Tochter z e l l e n betrug jeweils 2n; es ist somit wahrscheinlich, daß die beiden Zell k e r n e jeder Tochterzelle ungefähr haploid waren.

Die (diploide ?) Tochterzelle A teilte sich durch zwei- oder dreistrahlige vierpolige Mitose in zwei einkernige Enkelzellen (rel. DNS-Gehalt je 1c) und in eine zweikernige Enkelzelle (rel. DNS-Gehalt 1c und 1c).
Die (diploide ?) Tochterzelle B teilte sich durch einstrahlige drei- oder vierpolige Mitose (eine Kernfusion am Ende der Telophase war hier nicht auszuschließen) ein eine einkernige (rel. DNS-Gehalt 2c) und in eine zweikernige Enkelzelle (rel.DNS-Gehalt 1c und 1c).
Unter der Voraussetzung, daß der cytophotometrisch ermittelte 1c - Wert in diesem Fall tatsächlich einem haploiden oder ungefähr haploiden Chromosomensatz entsprach, läßt sich feststellen, daß aus einer diploiden zweikernigen Zelle mit zwei haploiden Kernen ein diploider und sechs haploide Enkel-Zellkerne hervorgegangen sind.
Da jedoch die Enkelzellen erst zum Zeitpunkt 40.50 h - d.h. 33.67 h nach der Anaphase der Tochterzelle B und 15.67 h nach der Anaphase der Tochterzelle A - fixiert wurden, bieten sich wenigstens zwei Erklärungsmöglichkeiten für die große Anzahl haploider Zellkerne an:

1) Wegen des späten Fixierungszeitpunktes handelte es sich bei den Enkel-Zellkernen nicht mehr um G_1- sondern um S- oder G_2-Phasen-Kerne. Die Korrelation zwischen relativem DNS-Gehalt und Ploidie kann dann nicht verwendet werden, da nicht bekannt ist, in welchem Stadium sich die Kerne befanden, und wie die Umrechnung des gemessenen rel. DNS-Gehalts in den ihm entsprechenden Ploidiewert erfolgt. Die 1c-Kerne hätten somit eine Ploidie, die k l e i n e r als 1n ist. Somit könnten multipolare Mitosen zur Reduktion des chromosomalen Materials in haploide und hypo-haploide Chromosomensätze führen.

2) Bei den 1c-Kernen handelte es sich tatsächlich um haploide bzw. ungefähr haploide Zellkerne, die zwar lebensfähig, aber nicht zur DNS-Synthese fähig sind. Alle Zellkerne lagen in der G_1- oder G_0-Phase. Unerklärlich bleibt allerdings, warum die 2c-Enkelzelle (vorausgesetzt, es handelte sich bei diesem Zellkern nicht um einen haploiden Kern, der gerade die S-Phase durchlaufen hatte) trotz

reger mitotischer Aktivität ihrer Nachbarzellen selbst nach 33.67-stündiger Interphasezeit noch keine Anzeichen einer beginnenden Mitose erkennen ließ.

Zyklusdauer der Tochterzelle A: 24.83 h (Nr. 208)
Zyklusdauer der Tochterzelle B: 6.83 h (!) (Nr. 209)

III.14 i) Langzeitbeobachtung 18 (Abbildungen 45 und 46)

Die zweikernige Zelle der aneuploiden Kultur (Tab.1, Nr. 199) teilte sich in eine einkernige Tochterzelle A und in eine zweikernige Tochterzelle B (diese entstand durch Pseudo-Schwesterzellfusion in der späten Telophase). Die dreipolige Metaphasenfigur zeigte einen langen und zwei kürzere Strahlen; sie ist somit als dreistrahlige Mitose bzw. als modifizierte Parallelmitose zu bezeichnen.

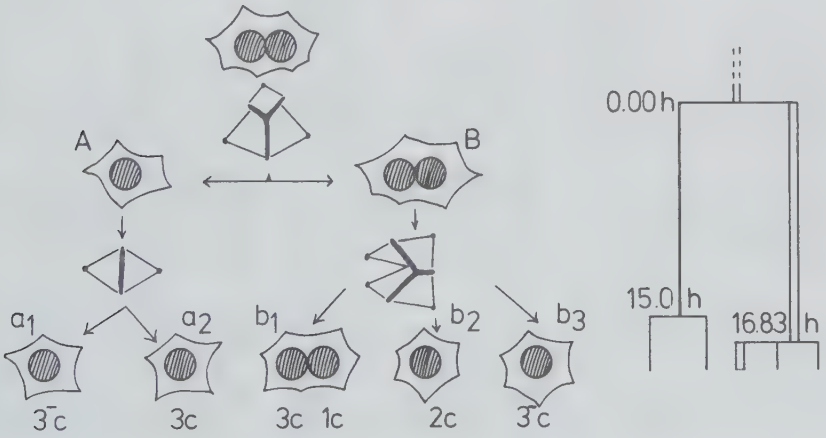


Abbildung 45: Langzeitbeobachtung 18 der Zelle Nr. 199
Einteilung wie Abb.38 (vgl. Abb.46)

Die einkernige Tochterzelle A teilte sich durch einstrahlige bipolare Mitose in zwei einkernige Enkelzellen a1 (rel. DNS-Gehalt 3⁻c) und a2 (rel. DNS-Gehalt 3c).

Die zweikernige Tochterzelle B bildete eine dreistrahlige vierpolige Metaphasenfigur, aus der eine zweikernige Enkelzelle b1 (rel. DNS-Gehalt 1c und 3c) und zwei einkernige Enkelzellen b2 (rel. DNS-Gehalt 2c) und b3 (rel. DNS-Gehalt 3^{-}c) hervorgingen. Die Summe des relativen DNS-Gehalts aller Enkelkerne betrug 14c.

Zyklusdauer der Tochterzelle A: 15.00 h (Nr. 16)
Zyklusdauer der Tochterzelle B: 16.83 h (Nr.200)

Abbildung 46 a - v zeigt Ausschnitte aus der während der Lebendbeobachtung angefertigten Photoserie: Mitose der Mutterzelle (Abb.46 a-f), Mitose der einkernigen Tochterzelle A (Abb.46 g-p), Mitose der zweikernigen Tochterzelle B (Abb.46 q-v).

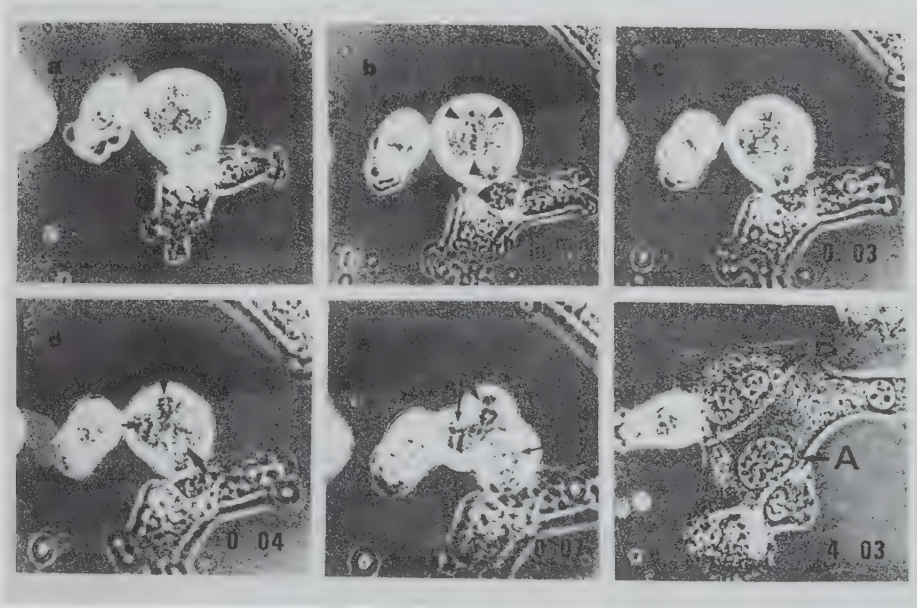


Abbildung 46 a-f: Langzeitbeobachtung 18: Mitose der zweikernigen Mutterzelle Nr. 199 (Pfeil in 'a'). Erläuterungen S. 183/184 (vgl. Abb.45)

Abbildung 46 g-v: Langzeitbeobachtung 18: Mitosen der einkernigen Tochterzelle A (g-p) und der zweikernigen Tochterzelle B (q-v)
Erläuterungen S.186

Abbildung 46: Erläuterungen (zu S.185)

I. Mitose der zweikernigen Mutterzelle:
a) späte Prometaphase; b) Y-förmige dreistrahlige Metaphasenfigur (Pfeile markieren die zum Teil schwer erkennbaren Strahlen); c) Anaphase; d) späte Anaphase; e) Übergang zur Telophase (die Pfeile markieren hier die zukünftigen Zellkerne der Tochterzellen); f) Interphase: Eine einkernige Tochterzelle A und eine zweikernige Tochterzelle B lagen noch mehrere Stunden nach der Telophase nahe nebeneinander; die beiden Tochterzellen waren durch einen schmalen Spalt voneinander getrennt.

II. Mitose der einkernigen Tochterzelle A:
g) Prophase (die Kernmembran war noch nicht aufgelöst; die Zelle nahm langsam eine spindelförmige Gestalt an); h) Prometaphase: Die Chromosomen lagen in einer halbmondförmigen Gruppe; i) späte Prometaphase: Die Chromosomen waren halbkreisförmig angeordnet. k,l) Aus dieser Gruppe ging durch Streckung und leichte Drehung eine einstrahlige Metaphasenfigur hervor; m-o) Anaphase; p) frühe Interphase: Aus der einkernigen Tochterzelle A gingen zwei einkernige Enkelzellen (a1 und a2) hervor, während die zweikernige Tochterzelle B noch in der späten Interphase bzw. sehr frühen Prophase verharrte.

III. Mitose der zweikernigen Tochterzelle B:
p) Die Prophase kündigte sich durch Granulierung des Karyoplasmas an; q) Prometaphase; r,s) Metaphase: Die Metaphasenfigur ließ drei Strahlen erkennen; t,u) Anaphase (die Pfeile kennzeichnen die späteren Enkelkerne); v) Interphase (Photo kurz nach der Fixierung; Phasenkontrast, Übersicht).

III.14 k) Langzeitbeobachtung 19 (Abbildung 47)

Die zweikernige Zelle der aneuploiden Kultur (Tab.1, Nr. 196) teilte sich durch einstrahlige vierpolige Mitose (Parallelmitose) in die beiden zweikernigen Tochterzellen A und B. Aus den beiden Tochterzellen entstanden durch einstrahlige bipolare Mitosen je zwei einkernige Enkelzellen.
Von den aus der Tochterzelle A hervorgegangenen Enkelzellen starb eine Enkelzelle 8.75 Stunden nach der Anaphase ab. Die Schwesterzelle war jedoch lebensfähig; ihr relativer DNS-Gehalt betrug 7c.
Die beiden aus der Mitose der Tochterzelle B hervorgegangenen einkernigen Enkelzellen fusionierten ca. 4.1 Stunden nach der Anaphase. Nach Feulgenfärbung waren im gemeinsamen Cytoplasma der fusionierten Zellen mehrere Mikrokerne zu erkennen. Der relative DNS-Gehalt der beiden Zellkerne betrug 9c und 11c.
Da die Enkelzellen zum Zeitpunkt 33.00 Stunden fixiert wurden (d.h. 24.75 h bzw. 18.10 h nach der Anaphase der Tochterzellen), kann der relative DNS-Gehalt nicht zur Ploidiebestimmung herangezogen werden: Die Möglichkeit, daß die Zellen schon die G_1-Phase durchlaufen haben, muß hier nämlich in Erwägung gezogen werden. Eine Messung des relativen DNS-Gehalts würde in diesem Fall zu falschen Rückschlüssen auf den Ploidiegrad der Zelle führen.

Zyklusdauer der Tochterzelle A:	8.25	h	(Nr. 197)
Zyklusdauer der Tochterzelle B:	14.90	h	(Nr. 198)
Zelltod der Enkelzelle:	17.00	h	nach Anaphase der Mutterzelle
Fixierung der Zellen:	33.00	h	nach Anaphase der Mutterzelle

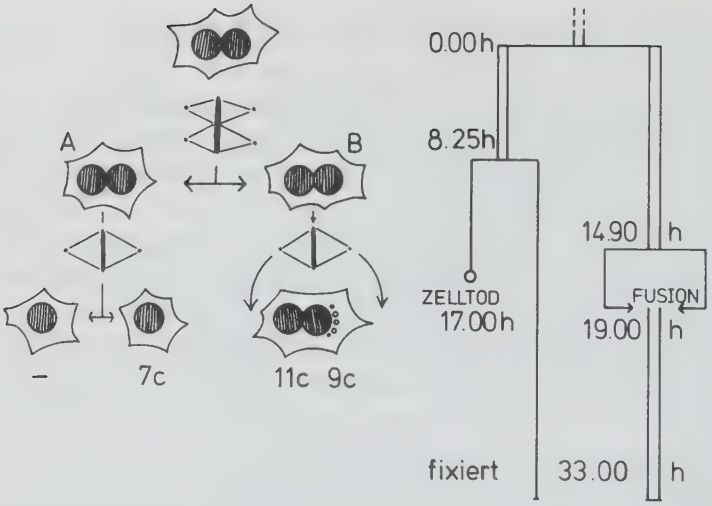


Abbildung 47: Langzeitbeobachtung 19 der Zelle Nr. 196
Einteilung wie Abb.38

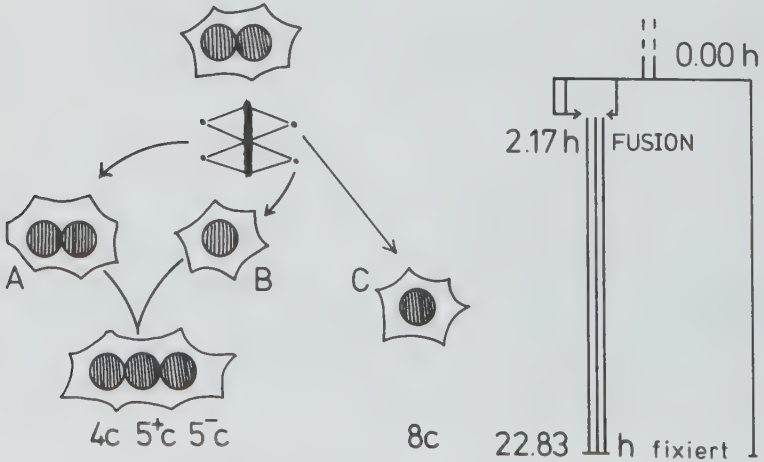


Abbildung 48: Langzeitbeobachtung 20 der Zelle Nr. 195
Einteilung wie Abb.38

III.14 l) Langzeitbeobachtung 20 (Abbildung 48)

Aus der einstrahligen vierpoligen Mitose (Parallelmitose) der zweikernigen Zelle der aneuploiden Kultur (Tab.1, Nr.195) gingen eine zweikernige Tochterzelle A und zwei einkernige Tochterzellen B und C hervor.
2.17 h nach der Anaphase fusionierten die Tochterzellen A und B, so daß eine dreikernige Zelle entstand (rel. DNS-Gehalt mehr als 20 h nach der Fusion: 4c, 5^{+}c und 5^{-}c). Der rel. DNS-Gehalt der Tochterzelle C betrug 8c.
Der cytophotometrisch bestimmte relative DNS-Gehalt kann hier nicht zur Ploidiebestimmung herangezogen werden, da die Zellen zum Zeitpunkt der Fixierung (22.83 h nach der Anaphase) möglicherweise schon die G_1-Phase verlassen hatten.

III.14 m) Langzeitbeobachtung 21 (Abbildung 49)

Die zweikernige Zelle aus der aneuploiden Kultur (Tab.1, Nr.205) teilte sich durch einstrahlige fünfpolige Mitose (Parallelmitose) in eine zweikernige und in eine dreikernige Tochterzelle. Die zweikernige Tochterzelle konnte nicht weiterverfolgt werden, da sie aus dem Beobachtungsfeld ausgewandert war.
Aus der dreikernigen Zelle gingen durch eine drei- oder mehrstrahlige fünfpolige Mitose drei einkernige Tochterzellen A, B und C und eine zweikernige Tochterzelle D hervor. Tochterzelle A zeigte während der nächsten 22.3 h nach der Anaphase keinerlei mitotische Kernveränderungen.
Die Tochterzellen B und C teilten sich durch einstrahlige bipolare Mitosen in je zwei einkernige Enkelzellen (rel. DNS-Gehalt 6^{+}c / 6^{+}c und 6c / 6c); aus der Tochterzelle D gingen durch vier- oder mehrstrahlige (?) fünfpolige Mitose zwei einkernige (rel. DNS-Gehalt 6c und 6c + Mikrokern) und eine dreikernige Enkelzelle (rel. DNS-Gehalt 3^{+}c, 3^{+}c und 8c + Mikrokern) hervor.
Die Enkelzellen wurden zum Zeitpunkt 34.5 h fixiert, also 9.42 h (B), 9.45 h (C) und 1.25 h (D) nach der Anaphase ihrer jeweiligen Mutterzellen (d.h. der Tochterzellen B,C und D).

Zyklusdauer der dreikernigen Zelle: 12.20 h (Nr. 51)
Zyklusdauer der Tochterzelle A: -
Zyklusdauer der Tochterzelle B: 12.88 h (Nr. 11)
Zyklusdauer der Tochterzelle C: 12.85 h (Nr. 12)
Zyklusdauer der Tochterzelle D: 21.05 h (Nr.206)

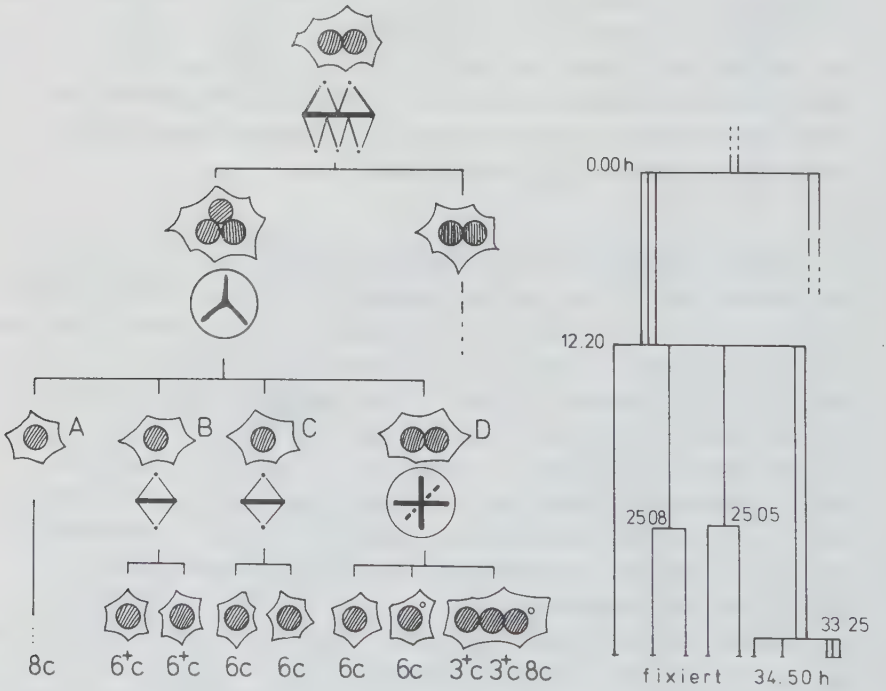


Abbildung 49: Langzeitbeobachtung 21 der Zelle Nr. 205
Einteilung wie Abb.38

III.14 n) Langzeitbeobachtung 22 (Abbildung 50)

Die zweikernige Zelle (Tab.1, Nr. 188) teilte sich durch vierstrahlige fünfpolige Mitose in eine einkernige (+Mikrokerne) und in zwei zweikernige Tochterzellen. Während der letzten Minuten der Mitose schnürten sich zwei größere kernlose Cytoplasmastückchen ab, die mehrere Stunden später zugrunde gingen. 1.25 h nach der Anaphase fusionierten alle Tochterzellen, und es entstand eine vielkernige Riesenzelle, die bis zu ihrer Fixierung (32,25 h nach der Anaphase) keinerlei Veränderungen mehr zeigte.
Der relative DNS-Gehalt der Einzelkerne konnte nach Feulgen-Färbung wegen der engen Nachbarschaft der Kerne nicht exakt bestimmt werden. Der relative DNS-Gehalt aller Kerne übertraf indes den Wert 36c.

III.14 o) Langzeitbeobachtung 23 (Abbildungen 51)

Die zweikernige Zelle (Tab.1, Nr. 215) teilte sich durch einstrahlige vierpolige Mitose (Parallelmitose) in eine dreikernige Tochterzelle A und in eine einkernige Tochterzelle B.
Die dreikernige Tochterzelle A bildete durch einstrahlige bipolare Mitose zwei einkernige Enkelzellen (Abb.52), von denen eine zum Zeitpunkt der Fixierung (30.25 h bzw. 11.83 h nach der Anaphase) einen relativen DNS-Gehalt von 10c aufwies; möglicherweise hatte der Kern zu diesem Zeitpunkt schon die S-Phase durchlaufen (doppelter rel. DNS-Gehalt).
Die zweite Enkelzelle teilte sich in zwei einkernige Zellen (+Mikrokerne), deren relativer DNS-Gehalt 6^{-}c + Mikrokerne und 4^{+}c betrug.
Aus der bipolaren einstrahligen Mitose der Tochterzelle B gingen zwei einkernige Enkelzellen (rel. DNS-Gehalt 5c und 5c) hervor.

Zyklusdauer der Tochterzelle A:	18.42	h	(Nr. 49)
Zyklusdauer der Tochterzelle B:	29.25	h	(Nr. 13)
Zyklusdauer der Enkelzelle a1:	9.75	h	(Nr. 14)

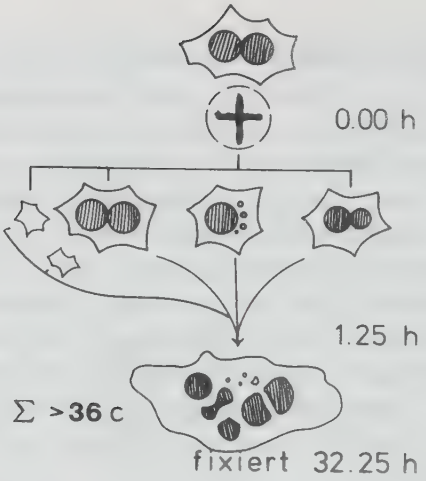


Abbildung 50: Langzeitbeobachtung 22 der Zelle Nr. 188

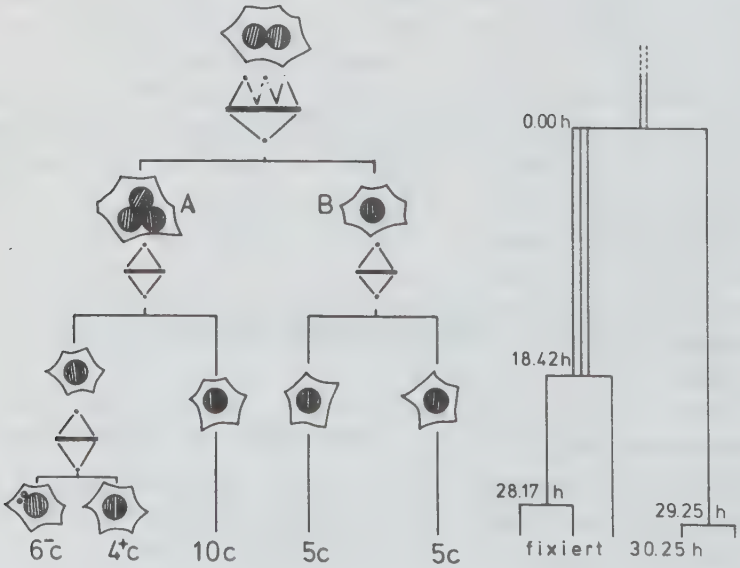


Abbildung 51: Langzeitbeobachtung 23 der Zelle Nr. 215
Einteilung wie Abb.38 (vgl. Abb.16)

III.14 p) Langzeitbeobachtungen 24 - 27 (Abbildung 52)

Der in Abb.52 dargestellte Mitosetyp wurde bereits im Kapitel 'Restitutionskerne' (III.13 g) erörtert. Insgesamt konnten vier zweikernige Zellen (Tab.1, Nr.134, 189, 190, 191) beobachtet werden, die trotz ihrer ungewöhnlich großen Zellkerne einen regulären Mitosebeginn erkennen ließen: Wie in mehrkernigen Zellen mit kleineren Zellkernen legten sich auch hier die beiden großen Kerne aneinander, und die Chromosomen schienen zu Beginn der Prometaphase in einer gemeinsamen Gruppe zu liegen. Danach kugelten sich die mitotischen Zellen so stark ab, daß wegen der starken Lichtbrechung keine genaueren Beobachtungen des Zellinnern erfolgen konnten. Während der Mitose war der Zelleib ungewöhnlich starken Bewegungen unterworfen: Er streckte sich, zog sich zusammen und begann, amöbenhaft in verschiedene Richtungen zu fließen. Die Mitosen dauerten mehrere Stunden, ohne daß Chromosomenbewegungen oder eine Kerneinschnürung in der späten Telophase zu erkennen gewesen wären. Die Mitosen wurden jeweils dadurch beendet, daß sich das Cytoplasma wieder in seiner Dicke veränderte: Die Zellen gingen langsam vom kugelförmigen in den flachen Zustand über. Statt der zwei ursprünglich vorhandenen Interphasekerne fanden sich jetzt stets mehrere Kerne in der Zelle, deren relativer Gesamt-DNS-Gehalt darauf schließen ließ, daß es sich bei den zweikernigen Zellen um hoch-polyploide Mutterzellen gehandelt haben mußte. Die große Variabilität in Größe und Form der Tochterkerne (= Restitutionskerne) wird allgemein mit der Unfähigkeit der mitotischen Zelle erklärt, einen funktionierenden Spindelapparat auszubilden (vgl. auch TSCHERMAK-WOESS, 1973).

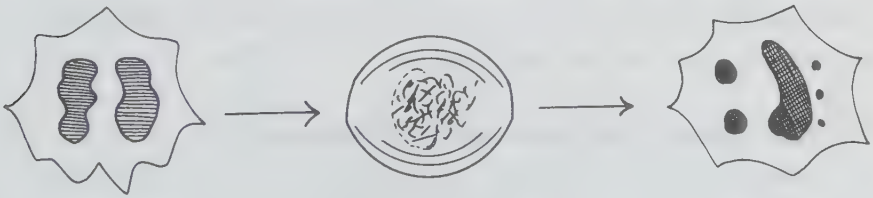


Abbildung 52: Langzeitbeobachtungen 24 - 27
Nach Photos schematisch vereinfacht gezeichnet

III.14 q) Langzeitbeobachtung 28 (Abbildung 53)

Durch einstrahlige dreipolige Mitose gingen aus der zweikernigen Zelle (Tab.1, Nr. 201) drei einkernige Tochterzellen hervor, die 1.58 h nach der Anaphase fusionierten. Eine dreikernige Zelle entstand; neben den großen Zellkernen waren hier auch einige Mikrokerne zu erkennen. Eine Bestimmung des relativen DNS-Gehalts konnte in diesem Fall nicht erfolgen.

III.14 r) Langzeitbeobachtung 29 (Abbildung 54)

Die zweikernige Zelle (Tab.1, Nr. 112) teilte sich durch dreistrahlige (?) vierpolige Mitose in zwei einkernige Tochterzellen A und C und in eine zweikernige Tochterzelle B.
Aus der Tochterzelle A gingen drei einkernige Enkelzellen (rel. DNS-Gehalt je 4c) hervor. Die Tochterzelle B teilte sich im Beobachtungszeitraum nicht. Die einkernige Tochterzelle C teilte sich in drei einkernige Enkelzellen, deren relativer DNS-Gehalt nicht bestimmt werden konnte.

Zyklusdauer der einkernigen Tochterzelle A: 12.25 h (Nr. 21)
Zyklusdauer der einkernigen Tochterzelle C: 13.66 h (Nr. 22)

III.14 s) Langzeitbeobachtung 30 (Abbildung 55)

Die zweikernige Zelle (Tab.1, Nr. 111) teilte sich durch einstrahlige vierpolige Mitose (Parallelmitose) in zwei einkernige und in eine zweikernige Tochterzelle. Eine einkernige Tochterzelle bildete eine vierstrahlige vierpolige Metaphasenfigur, aus der vier einkernige Zellen hervorgingen. Die beiden anderen Tochterzellen teilten sich im Beobachtungszeitraum nicht. Messungen des relativen DNS-Gehalts wurden nicht durchgeführt.

Zyklusdauer der einkernigen Tochterzelle: 13.88 h (Nr. 20)

III.14 t) Langzeitbeobachtung 31 (Abbildung 56)

Die zweikernige Zelle (Tab.1, Nr. 116) teilte sich in zwei einkernige Tochterzellen A und B. Die Tochterzelle A wurde während der gesamten Interphase beobachtet, d.h. intensiv belichtet; sie starb 15.0 h nach der Anaphase ab. Die ebenfalls intensiv be-

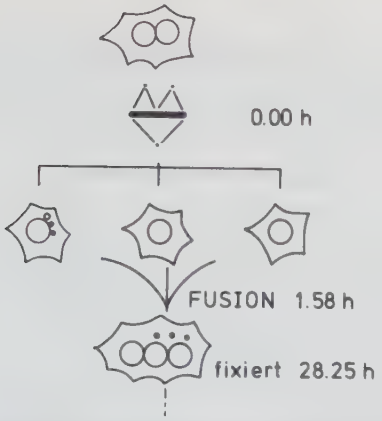


Abbildung 53: Langzeitbeobachtung 28 der Zelle Nr. 201

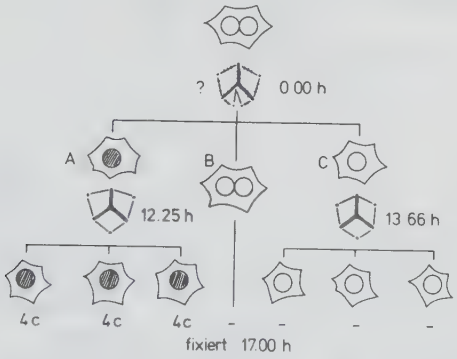


Abbildung 54: Langzeitbeobachtung 29 der Zelle Nr. 112

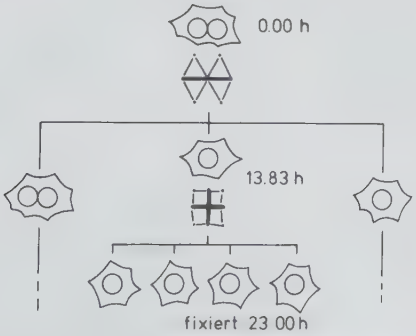


Abbildung 55: Langzeitbeobachtung 30 der Zelle Nr. 111

lichtete Tochterzelle B teilte sich durch dreipolige Parallelmitose in drei einkernige Enkelzellen. Nur von zwei Enkelzellen konnte der relative DNS-Gehalt bestimmt werden: 3c und 3c.

Zyklusdauer der Tochterzelle B: 16.20 h (Nr. 19)

III.14 u) Langzeitbeobachtung 32 (Abbildung 57)

Die zweikernige Zelle (Tab.1, Nr. 114) teilte sich in zwei einkernige Tochterzellen A und B. Tochterzelle A starb wahrscheinlich infolge intensiver Belichtung nach 9.5 h ab.
Tochterzelle B teilte sich in drei einkernige Enkelzellen, die ebenfalls zugrunde gingen. Der relative DNS-Gehalt der Kerne konnte nicht bestimmt werden, da sich die Zellen während des Fixierungsvorganges vom Deckglas ablösten.

Zyklusdauer der einkernigen Tochterzelle: 12.45 h (Nr. 28)

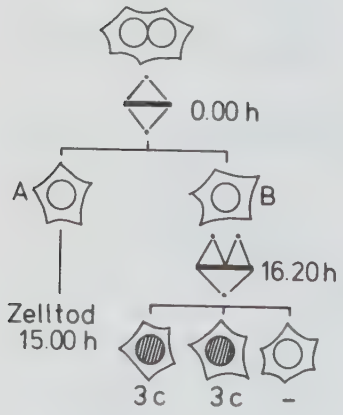


Abbildung 56:
Langzeitbeobachtung 31
der Zelle Nr. 116

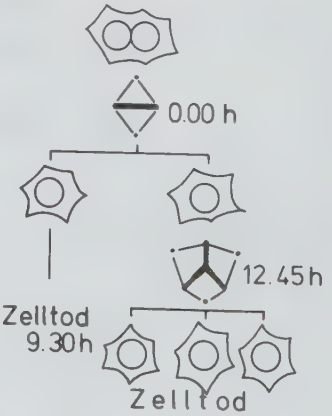


Abbildung 57:
Langzeitbeobachtung 32
der Zelle Nr. 114

III.14 v) Lebendbeobachtung zweikerniger 'Riesenzellen'

Während der Lebendbeobachtung fiel auf, daß zweikernige Zellen mit außergewöhnlich großen Zellkernen (10 - 20fache Fläche diploider Zellkerne) trotz bis zu 20stündiger Beobachtung keinerlei Anzeichen eines bevorstehenden Mitosebeginns zeigten. In Deckglaspräparaten, die 24 Stunden hindurch mit BrdU inkubiert worden waren, fanden sich regelmäßig zwei- und mehrkernige Riesenzellen ohne Zeichen einer BrdU-Markierung, wogegen die restlichen Zellen alle die für eine vollständige BrdU-Markierung typische Färbung (Zeichen für eine abgelaufene DNS-Synthese) erkennen ließen (vgl. in diesem Zusammenhang auch MATTIAS, 1977). Diese Beobachtungen können als Hinweis auf den langen Zellzyklus der zweikernigen Riesenzellen gewertet werden. Es erscheint sogar nicht ausgeschlossen, daß sich diese Zellen in der G_0-Phase befanden.
Im folgenden soll der Begriff der 'Riesenzelle' (d.h. eine Zelle mit auffällig großem Zelleib und sehr großen Zellkernen) nicht als Synonym für 'hoch-polyploide Zelle' benützt werden, da die Messung des relativen DNS-Gehalts in Kombination mit der Lebendbeobachtung ergab, daß einerseits einige hoch-polyploide zweikernige Zellen (Tab.1, Nr. 179, 184, 195, 198, 204, 206) keine außergewöhnlich großen Zellkerne besaßen, und daß andererseits zweikernige Zellen mit sehr großen Kernen nur tetraploid oder oktoploid waren. Auch einige penta- und hexaploide zweikernige Zellen zeigten im Vergleich mit diploiden Nachbarzellen für ihren Ploidiegrad überproportional große Zellkerne. Diese Beobachtungen unterstreichen die Ergebnisse von MITSUI und SCHNEIDER (1976), die feststellten, daß in einer diploiden menschlichen Fibroblastenkultur (WI38) die Zellkerngröße der Ploidie nicht immer proportional sein muß (vgl. auch JACOBY, 1925): Eine Zellpopulation mit kurzem Zellzyklus ('rapid replicating cell population') zeigte trotz gleicher Ploidie insgesamt kleinere Kerngrößen als eine sich nicht oder nur sehr langsam verdoppelnde Population diploider Zellen ('slow or non-replicating cell population'). In den Zellen mit außergewöhnlich langen Zellzyklen stellten MITSUI und SCHNEIDER (1976) weiterhin eine Zunahme der Kerngröße mit wachsender Kulturzeit fest, wogegen die Kerngrößenverteilung in der Population der sich schnell tei-

lenden Zellen im selben Zeitraum relativ konstant blieb.

Um Klarheit über das mitotische Verhalten und das Schicksal zweikerniger Riesenzellen zu erlangen, wurden in dünn bewachsenen Beobachtungskammern zweikernige Riesenzellen aufgesucht, markiert (durch Bestimmung der Koordinaten auf dem Mikroskopkreuztisch) und in 4 - 10stündigen Abständen bis zu acht Tage lang verfolgt; zwischen den Beobachtungen wurden die Kammern im Wärmeschrank inkubiert; das Nährmedium wurde zweimal täglich erneuert.

Die insgesamt 42 untersuchten zweikernigen Riesenzellen sind im folgenden zusammengefaßt:

Nr.1:
Siehe Kapitel 'two-group metaphase' (III.13 c); Beobachtungsdauer ca. 4 Stunden.

Nr.2 - 5:
Siehe Kapitel 'Restitutionskerne' (III.13 g) und Kapitel 'Lang-Zeitbeobachtungen' (III.14 p); Beobachtungsdauer bis ca. 25 h.

Nr.6 - 8:
Nach 70-, 95- bzw. 100-stündiger Beobachtungsdauer konnten die anfangs beobachteten zweikernigen Riesenzellen nicht mehr gefunden werden. An ihrem Lageplatz fanden sich stattdessen mehrkernige Zellen, die möglicherweise Restitutions-Tochterzellen der Riesenzellen waren. Der relative DNS-Gehalt konnte nur in einem Fall bestimmt werden: Er lag hier zwischen 15c und 25c.

Nr.9 - 25:
In diesen Fällen waren die Riesenzellen nach 5 - 8 Tagen nicht mehr aufzufinden. Eine Mitose innerhalb der letzten 4 - 10 Stunden vor Beobachtungsschluß war hier wahrscheinlich, da statt der Riesenzelle jeweils ein gleichmäßiger Zellrasen von einkernigen Nachbar- und Tochterzellen (?) vorhanden war, und die Zelle während ihrer letzten Beobachtung noch keine Anzeichen eines nahenden Zelltodes erkennen ließ.

Nr.26:
Siehe Kapitel 'Langzeitbeobachtungen' (III.14 f).

Nr.27:
Die Zelle zeigte nach einer ca. 80stündigen Beobachtung Veränderunge

die an die im Kapitel 'Restitutionskerne' (III.13 g) geschilderten Vorgänge erinnerten. Die Beobachtung wurde nach weiteren 22 Stunden abgebrochen, da sich die Zelle zu diesem Zeitpunkt noch immer nicht verändert hatte.

Nr.28 und 29:

Am Ende der Interphase, kurz vor dem vom Kernbild her erwarteten Prophasebeginn, zog sich das Cytoplasma der Zelle zusammen, die Kerne veränderten ihre gleichmäßige längsovale Form und wurden gelappt. Die Zelle rundete sich in einigen Bereichen ab. Innerhalb der nächsten 10 Stunden starb die Zelle ab.

Nr.30 - 33:

Ähnliche Vorgänge wurden in der Interphase beobachtet: Auch hier kugelte sich die Zelle ungleichmäßig ab, und die Kerne veränderten ihre Form. Der Zelltod trat innerhalb von 5 - 7 Tagen nach Beginn der Beobachtung ein.

Nr.34 - 42:

Die Beobachtung dieser Riesenzellen wurde 2 - 6 Tage nach Beobachtungsbeginn abgebrochen, ohne daß sich die Zellen bis zu diesem Zeitpunkt verändert hatten.

Die Lebendbeobachtungen zweikerniger Riesenzellen zeigten, daß diese Zellen in der Regel einen langen Zellzyklus hatten, zum Teil teilungsfähig waren und in wenigen Fällen gestörte Mitosen aufwiesen.

Das Absterben einiger zweikerniger Riesenzellen ist möglicherweise künstlich hervorgerufen worden (siehe Kapitel III.16): Hier ist vor allem an den Einfluß hoher Temperatur und intensiver Belichtung auf die Lebensfähigkeit der beobachteten Zellen zu denken.

Auch C-Metaphase-ähnliche Mitosestörungen können durch zu hohe Temperatur erzeugt werden (WANG, 1974), so daß eine prometaphasische Restitution als Folge zu hoher Temperatur denkbar ist (vgl. auch RAO und ENGELBERG, 1966).

III.15. Zellzyklus

Innerhalb eines Zellzyklus (Generationszyklus) durchläuft die Zelle vier gut unterscheidbare Phasen: G_1, S, G_2 (HOWARD und PELC, 1953) und die Mitose. Durch Anwendung autoradiographischer Methoden ist es möglich, die Dauer dieser Phasen in einem größeren Zellkollektiv zu bestimmen, so daß heute ein umfassender Überblick über das Wachstumsverhalten fast aller Zellen des Organismus vom Stadium der Entstehung bis zum Alter in den verschiedensten Säugerspezies vorliegt (SCHULTZE, 1968; AMLACHER, 1974).
Die in jüngerer Zeit eingeführte Bestimmung des Zellzyklus durch Markierung mit 5-Brom-2-desoxyuridin (MATTIAS, 1977; PERA, MATTIAS und DETZER, 1977) hat die Bestimmungsmethodik des Zellzyklus gegenüber den älteren Verfahren der Zellzyklusbestimmung (Cytophotometrie und Lebendbeobachtung von Zellen) sehr vereinfacht.

Obwohl die Lebendbeobachtung von Zellen in der Gewebekultur keinerlei Aussagen über die Dauer der G_1-, S- und G_2-Phase erlaubt, besitzt sie doch den großen Vorteil, daß definitive Aussagen über die Herkunft und das weitere Schicksal von Zellen unterschiedlicher Kollektive gemacht werden können. Es ist somit möglich, Mitosezeit, Interphasezeit und Zeit des Zellzyklus in ausgewählten Zellkollektiven zu untersuchen, die mit der Technik der H^3-Thymidin- und der BrdU-Zellzyklusbestimmung nicht unterschieden und gesondert bearbeitet werden können.
Aus diesem Grund wurden die während eines vollständigen Zellzyklus beobachteten Zellen (siehe Kapitel 'Langzeitbeobachtungen' III.14.) nach Herkunft (1. Zellkernzahl und 2. Spindelpolzahl der Mutterzelle), Anzahl ihrer Kerne (ein-, zwei- und dreikernige Zellen) und Ausgangsmaterial (ältere bzw. jüngere Kultur) gesondert in den Tabellen 25 - 27 aufgelistet. Hieraus ließ sich die durchschnittliche Zellzyklusdauer für unterschiedliche Kollektive errechnen (Tabellen 28 und 29).

Da in der Lebendbeobachtung die Anaphase stets gut zu erkennen war, wurde sie als zeitlicher Fixpunkt für die Bestimmung der Generationszeit gewählt, so daß sich ein Zellzyklus über den Zeitraum von der Anaphase der Mutterzelle bis zur Anaphase der Tochterzelle erstreckt. In der Regel wurde der Beginn der Anaphase als Beginn eines neuen Zellzyklus definiert; dies war in wenigen Mitosen jedoch wegen schlechter optischer Verhältnisse nicht mit eindeutiger Sicherheit möglich, so daß geringfügige Abweichungen um maximal 1 - 3 Minuten denkbar sind.
Die Dauer des Zellzyklus ist in den Tabellen 25 - 29 jeweils in Stunden angegeben; die Zahlenwerte in Klammern beziehen sich auf die Ploidie und die Anzahl der Spindelpole der jeweiligen Zelle.

Tabelle 25: Zyklusdauer einkerniger Tochterzellen von bipolaren Mitosen zweikerniger Mutterzellen (Zellzyklusbestimmung durch Lebendbeobachtung)
Zeitangaben in Stunden; in Klammern Ploidie und Spindelpolzahl der Tochterzelle

ZWEIKERNIGE MUTTERZELLE
↓
B I P O L A R E M I T O S E
↓
EINKERNIGE TOCHTERZELLEN

	A			B			Gesamt
Aneuploide Kultur	9.95	(-	2pol)	11.38	(-	2pol)	$\bar{x}$ = 12.89
	15.12	(-	2pol)	15.75	(-	2pol)	s = ±2.40
	10.22	(-	2pol)	12.00	(-	2pol)	
	15.80	(-	2pol)	-	-		n = 7
Euploide Kultur	14.60	(4n	2pol)	18.75	(4n	2pol)	
	12.25	(4n	2pol)	14.58	(4n	2pol)	
	14.33	(4n	2pol)	16.00	(4n	2pol)	
	14.08	(4n	2pol)	15.92	(4n	2pol)	
	15.45	(4n	2pol)	17.16	(4n	2pol)	$\bar{x}$ = 16.11
	12.75	(-	3pol)	Zelltod	9.50		s = ±2.19
	16.20	(-	3pol)	Zelltod	15.00		n = 18
	15.80	(4n	2pol)	Zelltod	13.30		
	15.33	(4n	2pol)	Zelltod	14.00		
	19.00	(4n	2pol)	20.00	(2n	2pol)	
	18.36	(4n	2pol)	19.36	(4n	4pol)	

Tabelle 26: Zyklusdauer ein-, zwei- und dreikerniger Tochterzellen von multipolaren Mitosen zweikerniger Mutterzellen (Zellzyklusbestimmung durch Lebendbeobachtung)
Zeitangaben in Stunden; in Klammern Ploidie und Spindelpolzahl der Tochterzelle
SZ = Schwesterzellen

ZWEIKERNIGE MUTTERZELLE
↓
M U L T I P O L A R E M I T O S E

	EINKERNIGE Tochterzellen	ZWEIKERNIGE Tochterzellen	DREIKERNIGE Tochterzellen
Aneuploide Kultur	12.08 (4n 3pol)	12.92 (- 8pol)	18.42 (5n 2pol)
	13.50 (6n 2pol) SZ	14.41 (12n 5pol)	12.20 (ca. 12n 5pol)
	14.80 (6n 5pol)	24.83 (2n 4pol) SZ	
	26.92 (4n 4pol)	6.83 (2n 3pol)	
	15.00 (3n 2pol)	18.58 (2n 2pol)	
	29.25 (5n 2pol)	16.83 (4n 4pol)	
		8.25 (- 2pol) SZ	
		14.90 (- 2pol)	
	$\bar{x}$ = 18.59	$\bar{x}$ = 14.69	$\bar{x}$ = 15.31
	s = ±6.81	s = ±5.35	s = ±3.11
	n = 6	n = 8	n = 2

Alle Tochterzellen: $\bar{x}$ = 16.23 s = ± 6.02 n = 16

Tabelle 27: Zyklusdauer ein-, zwei- und dreikerniger Tochterzellen von:

a) multipolaren Mitosen zweikerniger Mutterzellen

b) bi- und multipolaren Mitosen dreikerniger Mutterzellen

(Abkürzungen wie in Tab. 25 und 26)

a) euploide Kultur

ZWEIKERNIGE MUTTERZELLE

↓

M U L T I P O L A R E M I T O S E

EINKERNIGE Tochterzellen ← → ZWEIKERNIGE Tochterzellen

EINKERNIGE Tochterzellen		ZWEIKERNIGE Tochterzellen
15.25 (2n 2pol) 14.00 (2n 2pol) 11.25 (4n 3pol)	SZ	75.00 (8n 4pol)
13.83 (- 4pol)		
12.25 (6n 3pol) 13.66 (- 3pol)	SZ	
$\bar{x}$ = 13.37 s = ± 1.29 n = 6		

b) aneuploide Kultur

DREIKERNIGE MUTTERZELLE

BIPOLARE MITOSE ← → MULTIPOLARE MITOSE

↓

EINKERNIGE Tochterzellen

EINKERNIGE Tochterzellen ← → ZWEIKERNIGE Tochterzellen

9.75 (5n 2pol)	12.85 (6n 2pol) 12.88 (6n 2pol)	21.05 (13n 5pol)

III.15 a) Zellzyklus von Tochterzellen bi- und multipolarer Mitosen und von Zellen mit bi- und multipolaren Spindelfiguren

Die Lebendbeobachtung zeigte, daß sich die Zellzyklen (Tab.28) von Tochterzellen bipolarer (15.21 ± 2.68) und multipolarer Mitosen (15.45 ± 5.34) zweikerniger Zellen nicht wesentlich unterscheiden; auch die Zellzyklen ein- und mehrkerniger Zellen mit bipolaren (15.11 ± 3.76) und multipolaren Spindeln (15.39 ± 4.88) zeigen keine großen zeitlichen Differenzen.
Aufgrund der wenigen Beobachtungen sind die Zykluszeiten ein- und mehrkerniger Zellen mit dreipoligen (12.15 ± 2.62), vierpoligen (20.26 ± 4.8) und fünfpoligen Spindeln (15.61 ± 3.29) nur mit Einschränkung vergleichbar: Demnach ist der Zellzyklus ein- und mehrkerniger Zellen mit vierpoligen Spindeln besonders lang; hier wurde außerdem noch ein 75.00 h - Wert aus statistischen Gründen (statistischer Ausreißer) nicht berücksichtigt.
In der aneuploiden Kultur finden sich Unterschiede zwischen dem Zellzyklus einkerniger Tochterzellen bipolarer (12.50 ± 2.48) und multipolarer Mitosen (17.16 ± 6.4). Eine Zyklusdifferenz tritt auch bei den entsprechenden Zellen der euploiden Kultur auf, jedoch ist hier der Zellzyklus einkerniger Tochterzellen bipolarer Mitosen (16.11 ± 2.19) l ä n g e r als der Zellzyklus einkerniger Tochterzellen multipolarer Mitosen (13.37 ± 1.29).
Der Zellzyklus zweikerniger Tochterzellen multipolarer Mitosen der aneuploiden Kultur ist kürzer (15.40 ± 5.43) als der Zellzyklus einkerniger Tochterzellen multipolarer Mitosen (17.16 ± 6.4) - aber länger als der Zellzyklus dreikerniger Tochterzellen multipolarer Mitosen derselben Kultur (15.31 ± 3.11).

Die von MATTIAS (1977) in einer älteren Fibroblastenkultur der Erdmaus (Kultur Nr.58; vgl. auch PERA und SCHOLZ, 1974) mit der BrdU-Methode der Zellzyklusbestimmung ermittelte Generationszeit beträgt 14.8 h und ist somit mit der durch Lebendbeobachtung einkerniger Zellen ermittelten Zellzykluszeit $\bar{x}$ = 15.18 ± 3.86 (n = 40) gut vergleichbar; die in aneuploiden einkernigen Fibroblasten durch Lebendbeobachtung ermittelte Zellzykluszeit ($\bar{x}$ = 14.83 ± 5.38; n = 16) ist sogar mit dem von MATTIAS errechneten Wert fast identisch.

Tabelle 28: ZELLZYKLUS Zyklusbestimmung durch Lebendbeobachtung; Zeitangaben in Stunden. Die mit * gekennzeichneten Werte wurden ohne den statistischen Ausreißer 75.00 (8n 4pol) gewonnen.

	$\bar{x}$	s	n
Tochterzellen bipolarer Mitosen zweikerniger Zellen	15.21	2.68	26
Tochterzellen multipolarer Mitosen zweikerniger Zellen	15.45	5.34	22
Ein- und mehrkernige Zellen mit bipolaren Spindeln	15.11	3.76	33
Ein- und mehrkernige Zellen mit multipolaren Spindeln	15.39*	4.88*	17*
Ein- und mehrkernige Zellen mit dreipoligen Spindeln	12.15	2.62	7
Ein- und mehrkernige Zellen mit vierpoligen Spindeln	20.26*	4.80*	5*
Ein- und mehrkernige Zellen mit fünfpoligen Spindeln	15.61	3.29	4
Einkernige Tochterzellen bipolarer Mitosen (aneupl. Kultur)	12.50	2.48	8
Einkernige Tochterzellen bipolarer Mitosen (euploide Kultur)	16.11	2.19	18
Einkernige Tochterzellen multipolarer Mitosen (aneupl. Kultur)	17.16	6.40	8
Einkernige Tochterzellen multipolarer Mitosen (euploide Kultur)	13.37	1.29	6
Zweikernige Tochterzellen multipolarer Mitosen (aneupl. Kultur)	15.40	5.43	9
Dreikernige Tochterzellen multipolarer Mitosen (aneupl. Kultur)	15.31	3.11	2

III.15 b) Zellzyklus von Zellen unterschiedlicher Ploidie und von ein- und zweikernigen Zellen

Von den Zellzyklen der Zellen mit unterschiedlichem Ploidiegrad (Tab.29) soll hier nur der Zellzyklus der diploiden (15.58 ± 5.59) und der tetraploiden Zellen (16.21 ± 3.38) erwähnt werden, da die Zahl der Beobachtungen in den restlichen Ploidieklassen gering war.
Einkernige Zellen (n = 40) haben einen Zellzyklus von 15.18 ± 3.86 Stunden; eine zeitliche Differenz findet sich zwischen den Zellzyklen einkerniger Zellen der aneuploiden Kultur (14.83 ± 5.38) und der euploiden Kultur (15.42 ± 2.33). Eine ähnliche Differenz ist auch zwischen den Zellzyklen der einkernigen (14.83 ± 5.38) und der zweikernigen Zellen der aneuploiden Kultur (15.40 ± 5.43) festzustellen.

Tabelle 29: ZELLZYKLUS . Zyklusbestimmung durch Lebendbeobachtung; Zeitangaben in Stunden

	$\bar{x}$	s	n
Diploide Zellen (2n)	15.58	5.59	6
Triploide Zellen (3n)	-	-	1
Tetraploide Zellen (4n)	16.21	3.38	19
Pentaploide Zellen (5n)	19.14	7.98	3
Hexaploide Zellen (6n)	13.26	0.87	5
Hoch-polyploide Zellen (8n, 12n, 13n)	18.16	5.12	4
Einkernige Zellen			
Gesamt	15.18	3.86	40
Aneuploide Kultur	14.83	5.38	16
Euploide Kultur	15.42	2.33	24
Zweikernige Zellen der aneuploiden Kultur	15.40	5.43	9

III.16. Lebensfähigkeit und Teilungsfähigkeit der Tochterzellen bipolarer und multipolarer Mitosen

Die aus bi- und multipolaren Mitosen ein-, zwei- und dreikerniger Zellen hervorgegangenen Tochterzellen waren in der Regel lebens- und teilungsfähig.
In insgesamt 22 Fällen (die größtenteils nicht in Tabelle 1 aufgenommen wurden) starben einzelne oder alle Tochterzellen bi- und multipolarer Mitosen zweikerniger Zellen 3 - 9 Stunden nach der Mitose ab. Jedoch handelte es sich hierbei um Zellen, die während der Lebendbeobachtung kontinuierlich belichtet worden waren. Da andere, jeweils nur kurz und weniger intensiv belichtete Zellen (d.h. intermittierende Belichtung mit 33 - 50 % der zulässigen Lampenspannung) lebensfähig waren, wird der Zelltod auf die andauernde intensive Belichtung und die möglicherweise damit verbundene erhöhte Temperatur zurückgeführt. Diese Vermutung wird durch die Ergebnisse von WANG (1974) und WANG und YIN (1976) bestätigt, die vergleichbare Veränderungen der Zellform und des mitotischen Verhaltens in einer temperaturempfindlichen Zellinie feststellten.
Unerklärlich bleibt in diesem Zusammenhang aber, warum Schwesterzellen absterbender Zellen trotz gleich intensiver Bestrahlung im selben Beobachtungsareal einen regulären Mitoseverlauf ohne irgendwelche Anzeichen eines bevorstehenden Zelltodes zeigten (vgl. Langzeitbeobachtungen 1, 31, 32); auch die Nachbarzellen degenerierender Tochterzellen bi- und multipolarer Mitosen zeigten häufig keinerlei erkennbare Anzeichen eines gestörten Zellwachstums (vgl. auch OFTEBRO, 1965; OFTEBRO und WOLF, 1967).
Während der Lebendbeobachtung verstärkte sich außerdem der Eindruck, daß durch intensive Belichtung neben Zellform und Lebensfähigkeit besonders die Entwicklung eines regelrecht funktionierenden Spindelapparates empfindlich gestört wurde: Die überlebenden Tochterzellen kontinuierlich belichteter Mitosen zweikerniger Zellen enthielten in ungefähr 60.0 % einen oder mehrere Mikrokerne, die sich in den Tochterzellen 'regulär' belichteter Mitosen viel seltener fanden.

III.17. Mikronuklei

Wie Untersuchungen fixierter und gefärbter multipolarer Mitosen ergaben, handelt es sich bei den in vielen Tochterzellen bi- und multipolarer Mitosen zweikerniger Zellen anzutreffenden Mikronuclei um zwischen den auseinanderweichenden anaphasischen Chromatidengruppen liegengebliebene Chromosomen, die in der Telophase von einer eigenen Kernmembran umgeben werden; außerdem können Mikrokerne wahrscheinlich dadurch entstehen, daß schon zu Beginn der Mitose bestimmte Chromosomen nicht in die gemeinsame Metaphasenfigur eingeordnet werden und später als Mikrokerne im Cytoplasma einer Tochterzelle liegen (SCHMID, 1966).
In der Lebendbeobachtung konnte die Entstehung von Mikrokernen nicht eindeutig nachgewiesen werden.
Die Langzeitbeobachtungen ergaben, daß sich die Mikrokerne während der Mitose synchron mit dem Hauptkern verhalten: Ihr chromosomales Material wird in die gemeinsame Prometaphasengruppe integriert, womit die Eigenständigkeit des Mikrokerns aufgehoben ist.
Die beobachteten Tochterzellen von Mutterzellen mit einem oder mehreren Mikronuklei wiesen selbst keine Mikronuklei mehr auf.

III.18. Cytoplasmapartikel

In der Lebendbeobachtung konnten 12 Mitosen zweikerniger Zellen verfolgt werden, aus denen neben kernhaltigen Tochterzellen ein oder mehrere kleinere Cytoplasmastückchen hervorgingen, die weder im Phasenkontrast noch im Feulgen-gefärbten Präparat Zellkerne, Mikrokerne oder einzelne Chromosomen erkennen ließen.
Zwei unterschiedliche Entstehungsarten Feulgen-negativer Cytoplasmapartikel wurden beobachtet:
a) In zwei Fällen entstanden je zwei isolierte Cytoplasmastückchen dadurch, daß sich eine zweikernige, langgestreckte Zelle in der frühen Prophase so schnell abkugelte, daß die beiden äußeren Cytoplasmaausläufer vom mittleren, kernhaltigen Cytoplasmabezirk abgeschnürt wurden.
b) Die zweite Entstehungsart war häufiger: Cytoplasmapartikel wurden in der letzten Phase der Cytokinese von den kernhaltigen

Tochterzellen abgeschnürt, ohne daß eine bestimmte Mitosebesonderheit erkennbar gewesen wäre. Eindeutig konnten die Cytoplasmapartikel erst in der frühen Interphase identifiziert werden; zu einem Zeitpunkt, wo sich die kernhaltigen Tochterzellen fast vollständig voneinander getrennt hatten. Eine Fusion der Cytoplasmapartikel mit einer ihrer Schwesterzellen war zu diesem Zeitpunkt noch möglich.
In der frühen Interphase unterschied sich das Cytoplasma der kernlosen Cytoplasmapartikel nicht von dem der kernhaltigen Zellen; erst nach 4 - 12 Stunden hörte die Pseudopodienbildung der Cytoplasmapartikel allmählich auf; der Zelleib wurde kleiner, und das Cytoplasmastückchen starb ab, was sich in charakteristischen, von kernhaltigen toten Zellen bekannten Veränderungen des Cytoplasmas äußerte. Dieser Degenerationsvorgang war bei intensiver Belichtung so stark beschleunigt, daß kein Cytoplasmapartikel wesentlich länger als vier Stunden verfolgt werden konnte. Die bei schwächerer Belichtung beobachteten Cytoplasmapartikel konnten dagegen während der ganzen Interphase und teilweise auch noch während der folgenden Mitose beobachtet werden. Allerdings lösten sich die Cytoplasmastückchen während der Fixierung häufig vom Deckgläschen ab, was möglicherweise Folge autolytischer Vorgänge in schon längere Zeit abgestorbenen Cytoplasmapartikeln war.
Diese Beobachtungen bestätigen die Befunde an künstlich erzeugten kernlosen mitotischen Zellen ('mitoplasts') und chromosomenfreien Cytoplasmapartikeln, deren Lebensfähigkeit wenigstens mehrere Stunden lang erhalten blieb (CREMER, ZORN, CREMER und ZIMMER, 1976; SUNKARA, AL-BADER und RAO, 1977).

III.19. Häufigkeiten multipolarer Mitosen

Die Häufigkeiten der in der Lebendbeobachtung verfolgten multipolaren Mitosen wurden in verschiedenen Kollektiven untersucht. Folgende Kollektive wurden ausgewählt:

a) Einkernige Zellen (Tabelle 30)
b) Zweikernige Zellen (Tabelle 31)
c) (Vergleich der Häufigkeiten multipolarer Mitosen in einkernigen und in zweikernigen Zellen; Tabelle 32)
d) Zellen unterschiedlicher Ploidiestufen (Tabelle 33)
e) Tetraploide ein- und zweikernige Zellen (Tabelle 34)
f) Tetraploide ein- und zweikernige Zellen: Unterteilung nach Anzahl der Spindelpole (Tabelle 35)
g) Polyploide ein- und zweikernige Zellen (Tabelle 36)
h) Tochterzellen von einstrahligen, mehrstrahligen, bipolaren und multipolaren Mitosen (Tabelle 37)
i) Tochterzellen von zweikernigen und von polyploiden Mutterzellen (Tabelle 38)

Selten (3.2 %) fanden sich multipolare Mitosen während der Lebendbeobachtung in einer Zufallsstichprobe von 280 einkernigen Zellen, deren Herkunft (d.h. Ploidie, Kernzahl und Mitoseform der Mutterzelle) unbekannt war.
Dagegen waren multipolare Mitosen besonders häufig anzutreffen u.a. in polyploiden zweikernigen Zellen (66.7 %), in hexaploiden (83.3 %) und hoch-polyploiden Zellen (85.7 %) und in Tochterzellen multipolarer Mitosen (57.7 %).
Polyploide Zellen bildeten in 58.9 % und zweikernige Zellen in 56.7 % aller beobachteten Fälle mehrpolige Metaphasen.
Bis auf wenige Ausnahmen war der Prozentsatz multipolarer Mitosen in der älteren Kultur wesentlich höher als in den entsprechenden Kollektiven der jüngeren Kultur (vgl. Tab. 31, 33, 36, 38).

III.19 a) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in einkernigen Zellen (Tabelle 30)

50.0 % aller einkernigen Zellen, die als Tochterzellen multipolarer Mitosen bekannt waren, bildeten mehrpolige Spindelfiguren; dagegen ließen einkernige Tochterzellen bipolarer Mitosen nur in 11.5 % die Entstehung multipolarer Spindelfiguren erkennen. Die Häufigkeit multipolarer Mitosen war in polyploiden einkernigen Zellen (35.5 %) größer als in einer Zufallsstichprobe einkerniger, nach cytophotometrischen Befunden hauptsächlich diploider Zellen (3.2 %), deren Herkunft nicht bekannt war.

Tabelle 30: Häufigkeiten multipolarer Mitosen in einkernigen Zellen

1) Zufallsstichprobe von einkernigen Zellen, deren Herkunft unbekannt war	3.2 %	(9)	n = 280
2) Einkernige Tochterzellen von bipolaren Mitosen	11.5 %	(3)	n = 26
3) Einkernige Tochterzellen von mehrkernigen, polyploiden Mutterzellen	27.5 %	(11)	n = 40
4) Polyploide einkernige Zellen	35.5 %	(11)	n = 31
5) Einkernige Tochterzellen von multipolaren Mitosen	50.0 %	(7)	n = 14

III.19 b) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in zweikernigen Zellen (Tabelle 31)

In 56.7 % aller zweikernigen Zellen konnten multipolare Mitosen beobachtet werden; größere Unterschiede fanden sich dabei zwischen der jüngeren Kultur (49.1 %) und der älteren Kultur (72.5 %).
Polyploide zweikernige Zellen bildeten in 66.7 % aller beobachteten Fälle mehrpolige Spindelfiguren. Auch hier waren deutliche Unterschiede zwischen der jüngeren Kultur (62.7 %) und der älteren Kultur (75.9 %) festzustellen.

Tabelle 31: Häufigkeiten multipolarer Mitosen in zweikernigen Zellen

1) Diploide und polyploide zweikernige Zellen			
Gesamt	56.7 %	(89)	n = 157
jüngere Kultur	49.1 %	(52)	n = 106
ältere Kultur	72.5 %	(37)	n = 51
2) Zweikernige Tochterzellen polyploider Mutterzellen	62.5 %	(5)	n = 8
3) Polyploide zweikernige Zellen			
Gesamt	66.7 %	(64)	n = 96
jüngere Kultur	62.7 %	(42)	n = 67
ältere Kultur	75.9 %	(22)	n = 29
4) Zweikernige Tochterzellen multipolarer Mitosen	70.0 %	(7)	n = 10
5) Zweikernige Tochterzellen bipolarer Mitosen	nicht beobachtet		

III.19 c) Vergleich der Häufigkeiten multipolarer Mitosen in einkernigen und in zweikernigen Zellen (Tabelle 32)

Multipolare Mitosen wurden in zweikernigen Zellen häufiger beobachtet als in einkernigen Zellen: 3.2 % der einkernigen und 56.7 % der zweikernigen Zellen einer Zufallsstichprobe bildeten mehrpolige Spindelfiguren.
Der Anteil multipolarer Mitosen war in polyploiden zweikernigen Zellen (66.7 %) größer als in polyploiden einkernigen Zellen (35.5 %).
Einkernige Tochterzellen multipolarer Mitosen ließen in 50.0 % und zweikernige Tochterzellen multipolarer Mitosen in 70.0 % der beobachteten Zellteilungen mehrpolige Metaphasenfiguren erkennen. Von den Tochterzellen polyploider Mutterzellen bildeten 27.5 % der einkernigen und 62.5 % der zweikernigen multipolare Mitosen.

Tabelle 32: Vergleich der Häufigkeiten multipolarer Mitosen in einkernigen und in zweikernigen Zellen

1) Polyploide Zellen			
Einkernige	35.5 %	(11)	n = 31
Zweikernige	66.7 %	(64)	n = 96
2) Tochterzellen polyploider Mutterzellen			
Einkernige	27.5 %	(11)	n = 40
Zweikernige	62.5 %	(5)	n = 8
3) Tochterzellen bipolarer Mitosen			
Einkernige	11.5 %	(3)	n = 26
Zweikernige	nicht beobachtet		
4) Tochterzellen multipolarer Mitosen			
Einkernige	50.0 %	(7)	n = 14
Zweikernige	70.0 %	(7)	n = 10
5) Zufallsstichprobe			
Einkernige Zellen	3.2 %	(9)	n = 280
Zweikernige Zellen	56.7 %	(89)	n = 157

III.19 d) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Zellen unterschiedlicher Ploidiestufen (Tabelle 33)

Der Anteil multipolarer Mitosen war in diploiden Zellen (6.8 %) wesentlich geringer als in polyploiden Zellen.
In den in Tabelle 33 aufgelisteten Kollektiven sind neben euploiden auch aneuploide Zellen vertreten.
Besonders zahlreich waren multipolare Mitosen in triploiden (72.7 %), hexaploiden (83.3 %) und hoch-polyploiden Zellen (85.7 %). Aber auch in tetraploiden (45.3 %) und pentaploiden Zellen (63.6 %) wurden multipolare Mitosen weitaus häufiger beobachtet als in diploiden Zellen (6.8 %).
In der älteren, aneuploiden Kultur war der Prozentsatz multipolarer Mitosen unter den diploiden (100.0 %), tetraploiden (66.7 %) und hoch-polyploiden Zellen (88.9 %) größer als in den entsprechenden Ploidieklassen der jüngeren, euploiden Kultur. In der jüngeren Kultur fand sich dagegen ein im Vergleich zur älteren Kultur erhöhter Anteil multipolarer Mitosen unter den triploiden (85.7 %), pentaploiden (100.0 %) und hexaploiden Zellen (100.0 %).

Tabelle 33: Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Zellen unterschiedlicher Ploidiestufen

PLOIDIE	Gesamt		jüngere Kultur		ältere Kultur	
2 n	6.8 % (4)	59	1.8 % (1)	56	100.0 % (3)	3
3 n	72.7 % (8)	11	85.7 % (6)	7	50.0 % (2)	4
4 n	45.3 % (34)	75	41.3 % (26)	63	66.7 % (8)	12
5 n	63.6 % (7)	11	100.0 % (5)	5	33.3 % (2)	6
6 n	83.3 % (15)	18	100.0 % (8)	8	70.0 % (7)	10
>6 n	85.7 % (12)	14	80.0 % (4)	5	88.9 % (8)	9
		n		n		n

III.19 e) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in tetraploiden Zellen

Tabelle 34:

1) Gesamt	45.3 %	(34)	n = 75
2) Tetraploide einkernige Zellen	36.4 %	(8)	n = 22
3) Tetraploide zweikernige Zellen	49.1 %	(26)	n = 53

III.19 f) Häufigkeiten von zwei-, drei-, vier- und fünfpoligen Mitosen in tetraploiden ein- und zweikernigen Zellen (Tabelle 35)

Die von tetraploiden ein- und zweikernigen Zellen gebildeten multipolaren Metaphasenfiguren hatten drei, vier oder fünf Pole; Mitosen mit mehr als fünf Spindelpolen konnten in tetraploiden Zellen nicht beobachtet werden. Von den Mitosen tetraploider ein- und zweikerniger Zellen hatten 20.0 % drei, 22.7 % vier und 2.7 % fünf Pole. 54.7 % waren bipolar.
Unter den Mitosen tetraploider einkerniger Zellen fanden sich 13.6 % dreipolige und 22.7 % vierpolige; fünfpolige Spindelfiguren wurden in den tetraploiden einkernigen Zellen nicht erkannt. Die zweikernigen tetraploiden Zellen bildeten 22.6 % dreipolige, 22.6 % vierpolige und 3.8 % fünfpolige Mitosefiguren.

Tabelle 35: Häufigkeiten multipolarer Mitosen in tetraploiden Zellen: Unterteilung nach Zahl der Spindelpole

Zahl der SPINDELPOLE	4n-Zellen GESAMT (n=75)	4n-Zellen EINKERNIGE (n=22)	4n-Zellen ZWEIKERNIGE (n=53)
2	54.7 % (41)	63.6 % (14)	50.9 % (27)
3	20.0 % (15)	13.6 % (3)	22.6 % (12)
4	22.7 % (17)	22.7 % (5)	22.6 % (12)
5	2.7 % (2)	- -	3.8 % (2)

III.19 g) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in polyploiden Zellen (Tabelle 36)

Der Prozentsatz multipolarer Mitosen betrug in polyploiden ein- und mehrkernigen Zellen 58.9 %. In der jüngeren Kultur waren 55.7 % und in der älteren Kultur 65.8 % aller polyploiden Mitosen multipolar. Unterschiede in der Häufigkeit multipolarer Mitosen fanden sich zwischen polyploiden einkernigen (35.5 %) und polyploiden zweikernigen Zellen (66.7 %). 33.3 % der polyploiden einkernigen Zellen der jüngeren Kultur und 40.0 % der polyploiden einkernigen Zellen der älteren Kultur bildeten multipolare Mitosen. Auch in der Gruppe der zweikernigen polyploiden Zellen war der Anteil der älteren Kultur größer (75.9 %) als der entsprechende Anteil der jüngeren Kultur (62.7 %).

Tabelle 36: Häufigkeiten multipolarer Mitosen in polyploiden Zellen

1) Polyploide ein- und mehrkernige Zellen			
Gesamt	58.9 %	(76)	n = 129
jüngere Kultur	55.7 %	(49)	n = 88
ältere Kultur	65.8 %	(27)	n = 41
2) Polyploide einkernige Zellen			
Gesamt	35.5 %	(11)	n = 31
jüngere Kultur	33.3 %	(7)	n = 21
ältere Kultur	40.0 %	(4)	n = 10
3) Polyploide zweikernige Zellen			
Gesamt	66.7 %	(64)	n = 96
jüngere Kultur	62.7 %	(42)	n = 67
ältere Kultur	75.9 %	(22)	n = 29

III.19 h) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Tochterzellen bipolarer, multipolarer, einstrahliger und mehrstrahliger Mitosen (Tabelle 37)

Unter den Tochterzellen bipolarer Mitosen war der Anteil multipolarer Mitosen geringer (11.5 %) als unter den Tochterzellen multipolarer Mitosen (57.7 %). In diesem Kollektiv bildeten 50.0 % der einkernigen und 70.0 % der zweikernigen Tochterzellen mehrpolige Spindelfiguren. In 31.7 % der Tochterzellen einstrahliger und in 54.5 % der Tochterzellen mehrstrahliger Mitosen konnten mehrpolige Metaphasen beobachtet werden. In einkernigen Tochterzellen einstrahliger bzw. mehrstrahliger Mitosen waren multipolare Mitosen seltener (22.6 % bzw. 44.4 %) anzutreffen als in zweikernigen Tochterzellen derselben Gruppen (62.5 % bzw. 100.0 %).

Tabelle 37: Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Tochterzellen bipolarer, multipolarer, einstrahliger und mehrstrahliger Mitosen

1) Tochterzellen bipolarer Mitosen			
Gesamt	11.5 %	(3)	n = 26
Einkernige	11.5 %	(3)	n = 26
Zweikernige	nicht beobachtet		
2) Tochterzellen multipolarer Mitosen			
Gesamt	57.7 %	(15)	n = 26
Einkernige	50.0 %	(7)	n = 14
Zweikernige	70.0 %	(7)	n = 10
3) Tochterzellen einstrahliger Mitosen			
Gesamt	31.7 %	(13)	n = 41
Einkernige	22.6 %	(7)	n = 31
Zweikernige	62.5 %	(5)	n = 8
4) Tochterzellen mehrstrahliger Mitosen			
Gesamt	54.5 %	(6)	n = 11
Einkernige	44.4 %	(4)	n = 9
Zweikernige	100.0 %	(2)	n = 2

III.19 i) Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Tochterzellen zweikerniger Mutterzellen und polyploider Mutterzellen (Tab.38)

Von den Tochterzellen zweikerniger Mutterzellen bildeten 37.5 % multipolare Mitosen; hier ließen sich unterschiedliche Häufigkeiten in der jüngeren (32.0 %) und in der älteren Kultur (43.5 %) feststellen. Die Mitosen der Tochterzellen polyploider Mutterzellen waren in 34.0 % multipolar. 62.5 % der zweikernigen und nur 27.5 % der einkernigen Tochterzellen polyploider Mutterzellen bildeten multipolare Mitosen.

Tabelle 38: Häufigkeiten multipolarer Mitosen in Tochterzellen zweikerniger und polyploider Mutterzellen

1) Tochterzellen zweikerniger Mutterzellen			
Gesamt	37.5 %	(18)	n = 48
jüngere Kultur	32.0 %	(8)	n = 25
ältere Kultur	43.5 %	(10)	n = 23
2) Tochterzellen von zweikernigen polyploiden Mutterzellen	38.1 %	(8)	n = 21
3) Tochterzellen polyploider Mutterzellen			
Gesamt	34.0 %	(17)	n = 50
jüngere Kultur	32.0 %	(8)	n = 25
ältere Kultur	36.0 %	(9)	n = 25
4) Einkernige Tochterzellen polyploider Mutterzellen	27.5 %	(11)	n = 40
5) Zweikernige Tochterzellen polyploider Mutterzellen	62.5 %	(5)	n = 8

III.20. Bestimmung der Spindelpolzahl in multipolaren Mitosen

Da im Phasenkontrast die Spindelpole nicht sichtbar sind, mußten ihre Lage (siehe auch Kap. III.3. und III.10.) und Zahl indirekt ermittelt werden. Hierzu wurde in der Regel die Anzahl der in der frühen Anaphase erkennbaren Chromatidengruppen der Zahl der Spindelpole gleichgesetzt; die erste Anaphasenhälfte war besonders günstig für die Bestimmung der Spindelpolzahl, da in diesem Stadium aufgrund der guten Sichtverhältnisse (wenig störende Zellorganellen im Bereich der Äquatorialplatte) die Chromatidengruppen noch gut gegeneinander abgrenzbar waren, was in späteren Mitosestadien nicht immer möglich war.
Da die Chromosomen der Telophasenteile besonders dicht gruppiert sind, könnte in der Telophase die Anzahl der Telophasenteile (≙ Spindelpole) außergewöhnlich einfach bestimmt werden: Die Telophasenteile imponieren im Phasenkontrast als dunkle, deutlich gegen die Umgebung abgesetzte Areale, die selbst bei kleiner Vergrößerung in der Regel erkannt werden können. Jedoch wird die Methode der Spindelpolzahlbestimmung durch Auszählung der Telophasenteile dadurch in ihrer Aussagekraft gemindert, daß zum einen wegen der starken Lichtbrechung während der Telophase die Telophasenteile nicht immer alle eindeutig erkannt werden, und zum andern in diesem Stadium schon eine Kernfusion (= Fusion von Telophasenteilen) erfolgt sein kann, was besonders häufig bei nahe nebeneinanderliegenden Schwesterpolen der Fall sein dürfte. Trotzdem wurde diese Methode häufig verwendet - besonders dann, wenn in der frühen oder auch späten Anaphase keine eindeutigen Befunde erhoben werden konnten.
In mehreren Fällen konnte weder in der Anaphase noch in der Telophase die Anzahl der Tochterchromosomengruppen ermittelt werden. Hier wurde nach Vergleich mit der Metaphasenfigur die Anzahl der Tochter k e r n e der Spindelpolzahl gleichgesetzt; da diese Methode jedoch selbst bei kontinuierlicher Beobachtung des Mitosegeschehens äußerst ungenau ist (Kernfusionen z.B. können nur aus der evtl. gebuchteten Form der Tochterkerne - Abb.2 - ermittelt werden), wurde sie nur in wenigen, scheinbar eindeutigen Fällen verwendet.

III.21. Kernfusion

Die Lebendbeobachtung multipolarer Mitosen ergab, daß die Zahl der Tochterkerne nicht immer mit der Zahl der während der Telophase erkennbaren Chromosomengruppen identisch war.
Durch Fusion von Telophasenteilen (= 'Kernfusion') entstanden Zellkerne, die zum Teil gebuchtet und gelappt waren und somit auf ihre Entstehung durch Kernfusion hinwiesen.
Kernfusionen, die in früheren Mitosestadien erfolgten, blieben in der Regel unbemerkt; sie konnten erst nachträglich bei der Auswertung der Photoserie durch Vergleich der Metaphasenfigur mit der Form der Archiplasmakegel, der Bewegungsrichtung der anaphasischen Chromatidengruppen und dem relativen DNS-Gehalt der Tochterkerne erkannt werden. Offen bleibt indes, ob es sich hierbei tatsächlich um 'Kernfusionen' oder vielmehr um 'Polfusionen' mit nachfolgender Verschmelzung der zugehörigen Chromosomen zu einer funktionellen Gruppe handelte (vgl. Kap. III.10. und Abb.9).
Die durch Kernfusion von Telophasenteilen entstandenen Zellkerne wurden in den Tabellen 39 - 43 besonders gekennzeichnet.
Obwohl die Lebendbeobachtungen mit großer Sorgfalt durchgeführt wurden, ist es doch sehr wahrscheinlich, daß Kernfusionen während der Telophase weitaus häufiger waren als dies zur Kenntnis genommen wurde, da das Auflösungsvermögen des Phasenkontrastmikroskops und die Kugelform der mitotischen Zellen nicht immer eine genaue Differenzierung der einzelnen Telophasenteile erlaubten.
Die als Etagenmitosen bezeichneten, aus zwei fast rechtwinklig übereinanderliegenden bipolaren Spindeln bestehenden Teilungsfiguren führten in zwei Fällen zur Kernfusion von je zwei Telophasenteilen, so daß aus insgesamt vier Spindelpolen nur zwei Tochterkerne hervorgingen.
Kernfusionen wurden nur zwischen benachbarten Telophasenteilen beobachtet. In bipolaren Mitosen gab es keine Kernfusionen.
In multipolaren Mitosen jedoch (n = 80) fanden sich Kernfusionen in insgesamt 8.7 %.

III.22. Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne bipolarer und multipolarer Mitosen ein-, zwei- und dreikerniger Zellen

In den Tabellen 39 - 41 ist der relative DNS-Gehalt der Tochterkerne bi- und multipolarer Mitosen nach jeweils zwei Kriterien getrennt aufgelistet: Nach der Zahl der Spindelpole (a) und nach der Konfiguration der Metaphasenfigur, d.h. nach der Anzahl der im Phasenkontrast erkennbaren Strahlen (b) derjenigen mitotischen Teilungsfigur, aus der die Zellkerne hervorgegangen sind. Obwohl Mitosen mit mehr als vier Strahlen nicht erkannt wurden, lassen es die Untersuchungen von LEVIS und MARIN (1963) und HENEEN (1971) doch wahrscheinlich erscheinen, daß auch in den beobachteten Mitosen ein weitaus variantenreicheres Bild der metaphasischen Chromosomenanordnung existierte als hier angenommen. Die Unterteilung in Tochterkerne einstrahliger, zwei- und dreistrahliger und vier- und mehrstrahliger Metaphasen erscheint aber trotzdem sinnvoll, da die Lebendbeobachtung im Phasenkontrast kein genaueres Erkennen der Metaphasenfigur erlaubte. Zudem war die Zahl der Mitosen mit mehr als vier Strahlen wahrscheinlich so gering, daß die in den Tabellen 39 - 41 gewählten Einteilungskriterien die tatsächlichen Verhältnisse nicht wesentlich verzerrt wiedergeben.
Die Spindelpole wurden nach der Definition von KOSTANECKI (1911) ermittelt (s. Kapitel III.3. und III.20.). Fehlermöglichkeiten dieser Methode sind vor allem in der Kernfusion von Telophasenteilen zu suchen, die in multipolaren Mitosen wahrscheinlich weitaus häufiger auftritt als dies tatsächlich beobachtet werden konnte. Die durch Kernfusion entstandenen Tochterkerne sind durch einen Strich markiert; Beispiel: 2c : 2c : $\underline{4}$c d.h. der $\underline{4}$c-Kern ist durch Fusion von zwei Telophasenteilen entstanden (die Fusion von mehr als zwei Telophasenteilen konnte nie beobachtet werden). Etagenmitosen wurden besonders gekennzeichnet (*).
Mikronuklei wurden in den Tochterzellen multipolarer Mitosen insbesondere der aneuploiden Kultur nicht selten gefunden. In den Tabellen 39 - 41 wurden sie indes nur im Fall eines cytophotometrisch meßbaren relativen DNS-Gehalts erwähnt (mn).
( ) = absolute Häufigkeiten der beobachteten Aufteilungsvarianten.

III.22 a) Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne einkerniger und dreikerniger Zellen der euploiden und aneuploiden Kultur (Tab.39)

Der relative DNS-Gehalt der Tochterkerne von insgesamt 84 einkernigen Zellen der aneuploiden Kultur (n = 10) und der euploiden Kultur (n = 74) konnte bestimmt werden. 86.9 % der einkernigen Zellen bildeten bipolare Spindelfiguren; in 13.1 % war die Metaphasenfigur multipolar. Tochterkerne dreikerniger Zellen konnten nur in zwei Fällen cytophotometrisch untersucht werden.

In den Tochterkernen einkerniger Zellen der euploiden Kultur wurden nur ganzzahlige Vielfache des relativen DNS-Gehalts 1c gemessen (= geordnete Verteilung). Dies deutet darauf hin, daß in der euploiden Kultur das chromosomale Material diploider und polyploider einkerniger Zellen jeweils nach vollständigen Chromosomensätzen geordnet auf die Tochterkerne verteilt wurde.
Dagegen war in der aneuploiden Kultur nur in vier von zehn untersuchten Mitosen polyploider einkerniger Zellen eine geordnete Aufteilung des chromosomalen Materials festzustellen.
Die Mitosen der dreikernigen Zellen führten in beiden Fällen zu einer geordneten Verteilung des genetischen Materials; jedoch ist es schwierig, die in der frühen G_1-Phase ermittelte Verteilungsvariante 4c : 3c : 4c zu interpretieren, da die durch Halbierung des Gesamt-DNS-Gehalts der Tochterkerne errechnete Mutterzellploidie keine ganze Zahl ergibt (= 5.5-ploid ?). Ähnliche Beobachtungen machten auch PERA und SCHWARZACHER (1969), die eine 2c : 1c : 2c und eine 4c : 3c : 4c Variante fanden. Es erscheint u.a. denkbar, daß es sich bei den entsprechenden Mutterzellen um aneuploide Zellen handelte, aus deren multipolaren Mitosen scheinbar 'euploide' Tochterkerne hervorgingen (die Täuschung beruht hier auf der cytophotometrischen 'Ploidiebestimmung', die nur die Summe des DNS-Gehalts erfaßt, jedoch keinerlei qualitative Aussagen über die wirkliche Chromosomenkonstellation erlaubt).
Die Tabellen 39 a und b verdeutlichen, daß der relative DNS-Gehalt der Tochterkerne multipolarer Mitosen gleich oder (häufig) kleiner - nie aber größer - als der Ploidiewert der einkernigen Mutterzelle war (Ausnahme: 5n-Mutterzelle teilte sich in 4^+c und 6^-c Tochterkerne).

Tabelle 39 a : Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne von ein- und dreikernigen Mutterzellen: Einteilung nach Zahl der S p i n d e l p o l e

		PLOIDIE	RELATIVER DNS-GEHALT DER TOCHTERKERNE ZWEIPOLIGER Mitosen	DREIPOLIGER Mitosen	VIERPOLIGER Mitosen	FÜNFPOLIGER Mitosen
einkernige Mutterzellen	aneuploide Kultur	3 n	3 : 3^- (1)			
		4 n		2 : 2 : 4 (1)	2 : 2 : 2 : 2 (1) 1 : 1 : 2 : 4 (1) + drei mn	
		5 n	4^+: 6^-mn(1) 5 : 5 (1)			
		6 n	6 : 6 (1) 6 : 6^+ (1) 6^+: 6^+ (1)			1^+:1^+:1^+:4^+: 4 (1)
	euploide Kultur	2 n	2 : 2 (53)			
		3 n		2 : 2 : 2 (1)		
		4 n	4 : 4 (14)	4 : 2 : 2 (2)	4 : 2 : 1 : 1 (1) 2 : 2 : 2 : 2 (2)	
		6 n		4 : 4 : 4 (1)		
dreikernige Mutterzellen	aneuploide Kultur	5 n	5 : 5 (1)			
		6 n		4 : 3 : 4 ? (1)		

Tabelle 39 b : Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne von ein- und dreikernigen Mutterzellen: Einteilung nach Zahl der S t r a h l e n der Metaphasenfigur

		PLOIDIE	RELATIVER DNS-GEHALT DER TOCHTERKERNE: ein-strahliger Mitosen	zwei- u. drei-strahliger Mitosen	vier- u. mehr-strahliger Mitosen
einkernige Mutterzellen	aneuploide Kultur	3 n	3 : 3⁻ (1)		
		4 n		2 : 2 : 4 (1)	2 : 2 : 2 : 2 (1)
		5 n	4⁺: 3⁻ (1) 5 : 5 (1)	1 : 1 : 2 : 4 (1) + drei mn	
		6 n	6 : 6 (1) 6 : 6⁺ (1) 6⁺: 6⁺ (1)	1⁺: 1⁺: 1⁺: 4⁺:4 (1)	
	euploide Kultur	2 n	2 : 2 (53)		
		3 n			2 : 2 : 2 (1)
		4 n	4 : 4 (14)	4 : 2 : 2 (2) 4 : 2 : 1 : 1 (1)	2 : 2 : 2 : 2 (2)
		6 n		4 : 4 : 4 (1)	
dreikernige Mutterzellen	aneuploide Kultur	5 n	5 : 5 (1)		
		6 n	4 : 3 : 4 (1)		

Tabelle 40 a : Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Mutterzellen der aneuploiden Kultur: Einteilung nach Zahl der S p i n d e l p o l e

zweikernige Mutterzellen aneuploide Kultur

PLOIDIE	RELATIVER DNS-GEHALT DER TOCHTERKERNE			
	ZWEIPOLIGER Mitosen	DREIPOLIGER Mitosen	VIERPOLIGER Mitosen	FÜNF- u. SECHSPOLIGER Mitosen
2 n		2 : 1 : 1 (1)	1 :1 :1 :1 (2)	
3 n	3 : 3 (1)	1 : 2 : 3 (1)	1^+:1^+:1 :2 (1)	
4 n	4 : 4 (2) 3^+: 4^+ (1) 4 : 4 mn (1)	2 : 2 : 4 (2) 2 : 3 : 3 (1)	1 :2 :3^-:3 (1)	1^-:1^+:2 : 2 : 2 (1)
5 n	5 : 5 (1)	2 : 4^-: 4 mn (1)	1^+:2^+:2^+:5^- (1)	
6 n		3 : 4 : 4^+mn (1) 3^+: 4 : 4 mn (1) 3 : 4 : 5 (1) 3 : 4 : 5 mn (1)	1^-:2 :4 :5^+ (1)	
7 n			3 :3 :4 :4^- (1)	2 :2^+:2^+:3^-:4 mn (1) 2 :2 :3 :3 :4 (1)
8 n			4 :4 :4 :4 (1)	
11 n	10 : 12 mn (1)		4 :5^+:5^-:8 (1)	
12 n				3^+:4 :4^+:5 :7 (1)
14 n				3^+:3^+:6 :6 :8 mn/mn (1)
17 n				1^-:3^+:3^+:8 :9 :9 mn (1)

Tabelle 40´b : Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Mutterzellen der aneuploiden Kultur: Einteilung nach Zahl der S t r a h l e n der Metaphasenfigur

zweikernige Mutterzellen aneuploide Kultur

PLOIDIE	RELATIVER DNS-GEHALT DER TOCHTERKERNE		
	ein-strahliger Mitosen	zwei- u. drei-strahliger Mitosen	vier- u. mehr-strahliger Mitosen
2 n	1 : 1 : 1 : 1 (1) 2 : 1 : 1 (1)	1 : 1 : 1 : 1 (1)	
3 n		3 : 3 (1) 1 : 2 : 3 (1)	1 : 1^+: 1^+: 2 (1)
4 n	$4_{}$: $4_{}$ (2) 3^+: 4^+ (1) 4 : 4 mn (1)	2 : 2 : 4 (2) 2 : 3 : 3 (1) $1_{}$: 2 : 3 : 3^- (1) 1^-: 1^+: 2 : 2 : 2 (1)	
5 n	5 : 5 (1)	$2_{}$: $4_{}$: 4^-mn (1) 1^+: 2^+: 2^+: 5^- (1)	
6 n	3^+: 4 : 4 mn (1)	3 : 4 : 4^+mn (1) $3_{}$: 4 : 5 mn (1) 1^-: 2 : 4 : 5^+ (1) 3 : 4 : 5 (1)	
7 n		2 : 2^+: 2^+: 3^-: 4 mn (1)	2 : 2 : 3 : 3 : $\underline{4}$ (1) 3 : 3 : 4 : $\underline{4}^-$ (1)
8 n		4 : 4 : 4 : 4 (1)	
11 n	10 : 12 mn (1) 4 : 5^+: 5^-: 8 (1)		
12 n		4 : 5 : 7 : 3^+: 4^+ (1)	
14 n		6 : 6 : 8 : 3^+: 3^+mn/mn (1)	
17 n		8 : 9 : 9 : 1^-: 3^+: 3^+mn (1)	

III.22 b) Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Zellen der aneuploiden Kultur (Tab.40)

Die Tochterkerne von 32 zweikernigen Zellen der aneuploiden Kultur konnten cytophotometrisch untersucht werden. 21.9 % der zweikernigen Mutterzellen bildeten bipolare und 78.1 % multipolare Metaphasen.
Die mitotische Aufteilung des chromosomalen Materials auf die Tochterkerne erfolgte in 43.8 % geordnet und in 56.2 % ungeordnet. Zur ungeordneten Verteilung wurden auch die Tochterkerne mit einem oder mehreren größeren Mikronuklei gerechnet; weitere, nicht meßbare Mikrokerne, die in der aneuploiden Kultur nicht selten beobachtet wurden, sind in Tabelle 40 a/b nicht erwähnt.
In einem Fall wurde eine Kernfusion von Telophasenteilen verfolgt: 2c : 2c : 3c : 3c : 4c.
In nur einem von allen untersuchten Tochterkernen fand sich eine Ploidiestufe, die die der Mutterzelle übertraf: 11n-Mutterzelle mit 10c und 12c (!) Tochterkernen.
In Tabelle 40 a/b fällt der außergewöhnlich große Variantenreichtum der Verteilungsmodi auf: Mehr als 81 % aller Varianten wurden nur ein einziges Mal beobachtet; nur drei Varianten konnten je zweimal beobachtet werden. Zudem schwankte die Ploidie der zweikernigen Mutterzellen in einem weiten Bereich zwischen 2n und 17n. In den zweikernigen Mutterzellen der euploiden Kultur (Tab.41) dagegen lagen die Ploidien zwischen 2n und 8n.
Auf eine Kernfusion von Telophaseteilen deutet die große Diskrepanz zwischen den einzelnen rel. DNS-Gehalt-Werten der Tochterkerne einer multipolaren Mitose hin: $1^{-}c:3^{+}c:3^{+}c:8c:9c:9c$; es ist denkbar, daß hier die Schwesterkerne mit den hohen Ploidiestufen durch Fusion von zwei oder mehreren Telophaseteilen entstanden sind.
Bei den beiden 3c-Tochterkernen der dreistrahligen Metaphasenfigur handelte es sich um Tochterkerne einer pseudo-tripolaren Mitose.

III.22 c) Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Zellen der euploiden Kultur (Tab.41)

Von den in Tabelle 41 a/b aufgelisteten Mitosen zweikerniger Zellen der euploiden Kultur (n = 70) waren 38.6 % bipolar und 61.4 % multipolar.
92.9 % der Mitosen führten zu einer nach vollständigen Chromosomensätzen geordneten Verteilung des genetischen Materials auf die Tochterkerne. Eine ungeordnete Verteilung fand sich nur in 7.1 % (5); in vier dieser Fälle handelte es sich um eine sog. 'begrenzte Fehlverteilung' (s. Kap. III.24.).
Kernfusionen wurden in sechs Mitosen beobachtet; die mit den Werten 5c : 5c und 8c : 8c aufgeführten Tochterkerne sind durch Kernfusionen entstandene Tochterkerne von Etagenmitosen. Durch Kernfusion entstanden auch Tochterkern-Ploidien, die die Ploidiestufe der Mutterzelle übertrafen: 6n-Mutterzelle mit einem 4c und einem 8c - Tochterkern; 3n-Mutterzelle mit einem 2c und einem 4c - Tochterkern.
Tabelle 41 a/b verdeutlicht, daß die Ploidie diploider und polyploider Zellen durch multipolare Mitosen reduziert werden kann: Nur zwei multipolare Mitosen ließen Tochterkerne entstehen, deren Ploidie die der Mutterzelle übertraf; in 95.3 % der ausgewerteten multipolaren Mitosen war die Ploidie der Tochterkerne gleich oder geringer als die Ploidie ihrer Mutterzellen.

Tabelle 41 a : Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Mutterzellen der euploiden Kultur: Einteilung nach Zahl der S p i n d e l p o l e

* = Etagenmitosen

zweikernige Mutterzellen euploide Kultur

PLOIDIE	RELATIVER DNS-GEHALT DER TOCHTERKERNE									
	ZWEIPOLIGER Mitosen		DREIPOLIGER Mitosen		VIERPOLIGER Mitosen		FÜNF- u. SECHSPOLIGER Mitosen	
2 n	2 : 2	(2)			1 : 1 : 1 : 1	(1)		
3 n	3 : 3	(1)	2 : $\frac{4}{}$	(1)				
			3 : $\frac{3}{}$	(1)				
			1 : 2 : 3	(3)				
4 n	4 : 4	(23)	2 : 2 : 4	(5)	2 : 2 : 2 : 2	(7)	2 : 2 : 2 :1.5 :0.5	(1)
			2 : 3 : 3	(4)	2 : 2 : $\frac{4}{}$	(1)		
					1 : 2 : $\frac{2}{}$: 3	(1)		
					1 : 1 : 2 : 4	(2)		
5 n			2 : 4 : 4	(2)	*$\frac{5}{}$: $\frac{5}{}$	(1)		
					1 : 2 : 3 : 4	(1)		
					2 : 2 : 3 : 3	(1)		
6 n			4 : $\frac{8}{}$	(1)	2 : 6 :2.5 :1.5	(1)	2 : 2 : 3 : 3 :1.5 :0.5	(1)
			4 : $\frac{4}{}$: 4	(1)	3 : 3 : 3 : 3	(1)		
			3 : 4 : 5	(1)	2 : 4 :5.5 :0.5	(1)		
8 n	8 : 8	(1)	7 :3.5 :5.5	(1)	*$\frac{8}{}$: $\frac{8}{}$	(1)		
					$\frac{4}{}$: $\frac{4}{}$: 4 : 4	(2)		

Tabelle 41 b : Relativer DNS-Gehalt der Tochterkerne zweikerniger Mutterzellen der euploiden Kultur: Einteilung nach Zahl der S t r a h l e n der Metaphasenfigur
* = Etagenmitosen

zweikernige Mutterzellen euploide Kultur

RELATIVER DNS-GEHALT DER TOCHTERKERNE

PLOIDIE	ein-strahliger Mitosen		zwei- u. drei-strahliger Mitosen		vier- u. mehr-strahliger Mitosen	
2 n	2 : 2	(2)	1 : 1 : 1 : 1	(1)		
3 n	3 : 3	(1)	3 : 3	(1)		
	2 : 4	(1)	1 : 2 : 3	(2)		
	1 : 2 : 3	(1)				
4 n	4 : 4	(23)	2 : 2 : 4	(1)	2 : 2 : 2 : 2	(3)
	2 : 2 : 4	(3)	2 : 2 : 4	(2)		
	2 : 2 : 2 : 2	(2)	2 : 2 : 2 : 2	(2)		
	2 : 2 : 2 :1.5 :0.5	(1)	1 : 1 : 2 : 4	(2)		
			1 : 2 : 2 : 3	(1)		
			2 : 3 : 3	(4)		
5 n			2 : 4 : 4	(2)	*5 : 5	(1)
			1 : 2 : 3 : 4	(1)		
			2 : 2 : 3 : 3	(1)		
6 n	3 : 3 : 3 : 3	(1)	4 : 8	(1)		
			4 : 4 : 4	(1)		
			3 : 4 : 5	(1)		
			2 : 4 :5.5 :0.5	(1)		
			2 : 6 :2.5 :1.5	(1)		
			2 : 2 : 3 : 3 :1.5 :0.5	(1)		
8 n	8 : 8	(1)	7 :3.5 :5.5	(1)	*8 : 8	(1)
	4 : 4 : 4 : 4	(1)	4 : 4 : 4 : 4	(1)		

III.22 d) Mitosen tetraploider einkerniger und zweikerniger Zellen

Ein- und zweikernige tetraploide Mutterzellen beider Kulturen bildeten bipolare und multipolare Mitosen; die aus diesen Mitosen hervorgegangenen Tochterkerne hatten unterschiedliche Ploidiestufen. Die in ein- und zweikernigen tetraploiden Zellen beobachteten Varianten der Verteilung des chromosomalen Materials sind in Tabelle 42 zusammengefaßt.
52.0 % aller tetraploiden Zellen bildeten bipolare Mitosen, aus denen zwei gleich große tetraploide Tochterkerne hervorgingen. Unter den einkernigen tetraploiden Mutterzellen fanden sich bipolare Mitosen häufiger (63.6 %) als unter den zweikernigen Zellen (47.2 %). Multipolare Mitosen wurden von 36.4 % der einkernigen und von 52.8 % der zweikernigen tetraploiden Zellen gebildet.
Unter den Tochterkernen tetraploider Mitosen wurden besonders häufig drei Verteilungsvarianten des chromosomalen Materials beobachtet: 4c : 4c (52.0 %), 2c : 2c : 4c (14.7 %) und 2c : 2c : 2c : 2c (13.3 %). Die von anderen Autoren (PERA und SCHWARZACHER, 1968; PERA, 1970; PERA und RAINER, 1973) häufig beobachtete Verteilungsvariante 3c : 2c : 3c fand sich in den untersuchten tetraploiden Zellen nur in insgesamt 6.7 %.

Tabelle 42: Verteilungsvarianten des chromosomalen Materials tetraploider ein- und zweikerniger Zellen

Tetraploide Mutterzellen einkernig	zweikernig	gesamt	rel. DNS-Gehalt der Tochterkerne
63.6 % (14)	47.2 % (25)	52.0 % (39)	4 : 4
13.6 % (3)	15.1 % (8)	14.7 % (11)	2 : 2 : 4
-	9.4 % (5)	6.7 % (5)	3 : 2 : 3
13.6 % (3)	13.2 % (7)	13.3 % (10)	2 : 2 : 2 : 2
9.1 % (2)	3.8 % (2)	5.3 % (4)	1 : 1 : 2 : 4
-	1.9 % (1)*	1.3 % (1)	1 : 2 : 2 : 3
-	9.4 % (5)	6.7 % (5)	Fehlverteilung
n = 22	n = 53	n = 75	

Die unterschiedlichen Verteilungsvarianten des chromosomalen Materials tetraploider ein- und zweikerniger Zellen sind in Tabelle 43 jeweils unter derjenigen Metaphasenfigur aufgeführt, aus der sie hervorgegangen sind. Dabei fällt auf, daß die Variante 2c : 2c : 2c : 2c sowohl aus ein-, zwei-, drei- und vierstrahligen Metaphasenfiguren hervorging. Die Verteilungsvariante 2c : 2c : 4c ließ verschiedene Entstehungsmöglichkeiten erkennen: Sie wurde von einstrahligen Parallelmitosen und von zwei- bzw. dreistrahligen Mitosen gebildet; in einem Fall kam es zur Fusion von zwei Telophaseteilen, so daß möglicherweise statt des Aufteilungsmodus 2c : 2c : 2c : 2c die Variante 2c : 2c : 4c entstand.
Die mit * gekennzeichneten Verteilungsvarianten sind in den Abbildungen 58 a-i schematisch wiedergegeben; Spindeln und Spindelpole konnten während der Lebendbeobachtung nicht gesehen werden, sie wurden hier aus Übersichtsgründen eingezeichnet.
Tetraploide Mitosen ein- und zweikerniger Zellen ließen vier verschiedene Anordnungen der Metaphasechromosomen erkennen: einstrahlige bipolare und Parallelmitosen (Abb.54 a - c), zweistrahlige V-Mitosen (d - f), dreistrahlige (g - h) und vierstrahlige Mitosen (i).

Tabelle 43: Verteilungsvarianten des chromosomalen Materials tetraploider einstrahliger, zwei- und dreistrahliger und vierstrahliger Metaphasen

EINSTRAHLIGE METAPHASEN		ZWEI- und DREISTRAHLIGE METAPHASEN		Vierstrahlige Metaphase (4str)
		*2c:2c:2c:2c	8.0 % (6)	(4str!)
		*3c:2c:3c	6.7 % (5)	
		2c:2c:4c	1.3 % (1)	
*4c:4c	52.0 % (39)	*2c:2c:4c	9.3 % (7)	
*2c:2c:4c	4.0 % (3)	*2c:2c:2c:2c	2.7 % (2)	
*2c:2c:2c:2c	2.7 % (2)	*1c:1c:2c:4c	5.3 % (4)	
4c:4c + mn	1.3 % (1)	*1c:2c:2c:3c	1.3 % (1)	
$3^{+}c:4^{+}c$	1.3 % (1)	1c:2c:3c:$3^{-}c$	1.3 % (1)	
2c:2c:2c:1.5c:0.5c	1.3 % (1)	$1^{+}c:1^{-}c$:2c:2c:2c	1.3 % (1)	

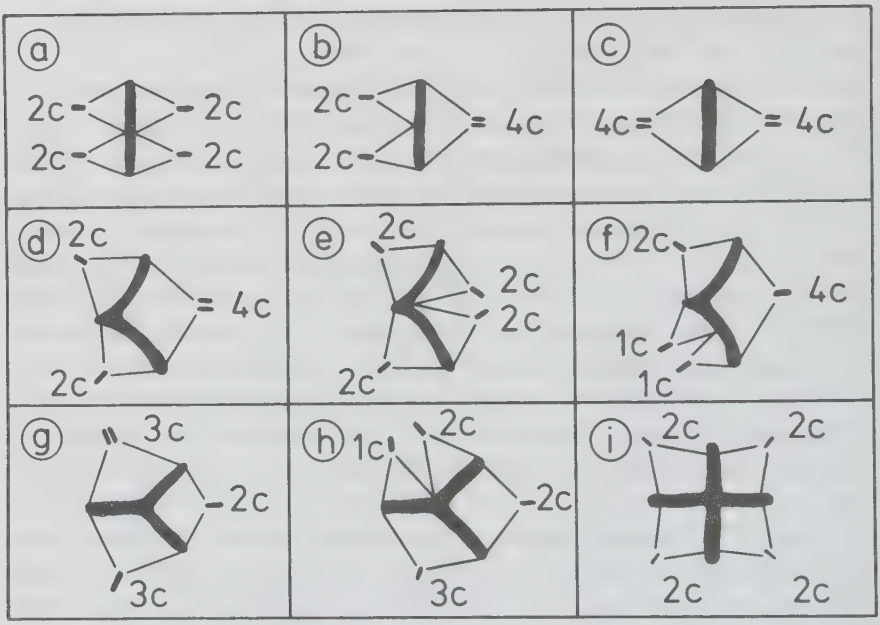


Abbildung 58: Schematische Darstellung tetraploider Metaphasen (Verteilungsvarianten des chromosomalen Materials in Tabelle 43 mit * gekennzeichnet)

III.23. Vergleich der Aufteilung des chromosomalen Materials von ein- und zweikernigen Zellen aus einer euploiden und einer aneuploiden Kultur durch bipolare und multipolare Mitosen

Die Aufteilung des chromosomalen Materials bi- und multipolarer Mitosen kann 'geordnet' und 'ungeordnet' erfolgen (Abb.59). Als geordnete Aufteilung wird ein cytophotometrisch ermittelter relativer DNS-Gehalt definiert, der einem ganzzahligen Vielfachen des 1c-Wertes entspricht. Eine ungeordnete Aufteilung entspricht einem nicht-ganzzahligen Vielfachen des 1c-Referenzwertes.
Alle Mitosen euploider einkerniger, diploider und polyploider Mutterzellen führten zu einer geordneten Verteilung des chromosomalen Materials (Abb.59 a); die Mitosen aneuploider einkerniger Zellen jedoch bewirkten sowohl eine geordnete als auch eine ungeordnete Aufteilung. Hierbei fanden sich je nach Polzahl unterschiedliche Verhältnisse: Insgesamt 60 % der Mitosen einkerniger aneuploider Zellen waren bipolar; ein Drittel dieser Mitosen führte zu einer geordneten Aufteilung des chromosomalen Materials. Unter den dreipoligen Mitosen fanden sich nur geordnete, unter den fünfpoligen Mitosen nur ungeordnete Aufteilungen; die vierpoligen Mitosen teilten das chromosomale Material der einkernigen aneuploiden Zellen zur Hälfte geordnet und zur Hälfte ungeordnet auf.

Die Mitosen zweikerniger, diploider und polyploider Zellen der euploiden Kultur ließen nur in insgesamt 7.1 % eine ungeordnete Aufteilung erkennen (Abb.59 b), die sich fast gleichmäßig auf die drei-, vier-, fünf- und sechspoligen Mitosen verteilte. Die bipolaren Mitosen zweikerniger euploider Zellen verteilten das chromosomale Material nur nach vollständigen Chromosomensätzen geordnet auf die Tochterkerne; im Gegensatz dazu fanden sich unter den fünf- und sechspoligen Mitosen nur ungeordnete Aufteilungen. Die Mehrzahl (88.2 %) der zweikernigen euploiden Zellen bildete zwei-, drei- und vierpolige Mitosen; eine ungeordnete Verteilung fand hier nur in insgesamt 4.8 % statt.
Jeweils etwa die Hälfte aller bi- und multipolaren Mitosen zweikerniger Zellen der aneuploiden Kultur bewirkte eine ungeordnete Aufteilung; die fünfpoligen Mitosen ließen dagegen alle nur eine ungeordnete Aufteilung erkennen.

Insgesamt führten 56.2 % der Mitosen aneuploider zweikerniger Zellen zu einer ungeordneten Aufteilung des chromosomalen Materials eine geordnete Aufteilung fand sich in 43.8 % der Mitosen. Die Mitosen zweikerniger euploider Zellen dagegen bewirkten in 92.9 % eine geordnete und nur in 7.1 % eine ungeordnete Aufteilung.

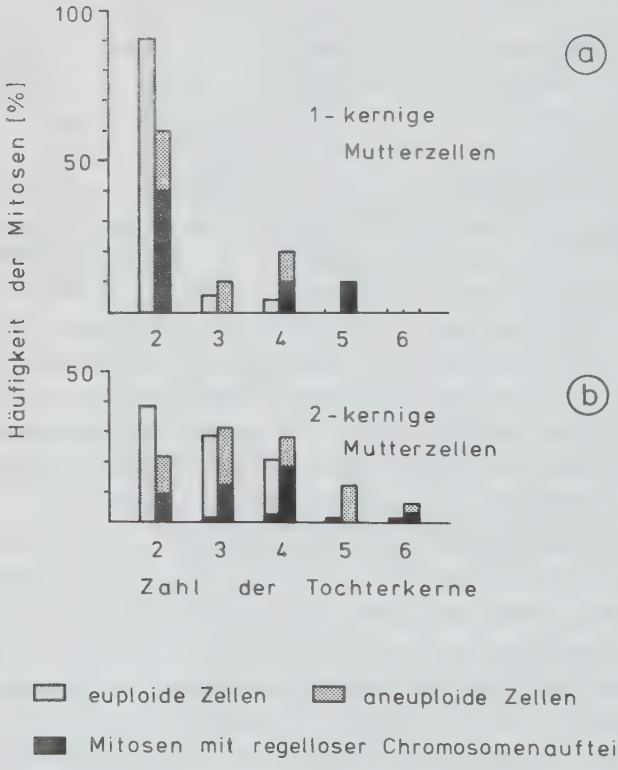


Abbildung 59: Aufteilung des chromosomalen Materials einkerniger (a) und zweikerniger Mutterzellen (b) durch zwei- und mehrpolige Mitosen.

III.24. 'Begrenzte Fehlverteilung'

In vier multipolaren Mitosen zweikerniger Zellen der euploiden Kultur konnte beobachtet werden, daß die durch Messung des relativen DNS-Gehalts der Tochterkerne ermittelte, ungeordnete Aufteilung des chromosomalen Materials auf jeweils nur eine Seite bzw. eine Polregion einer ein- oder dreistrahligen Metaphasenfigur beschränkt blieb, während die an den beiden anderen Seiten der Metaphasenfigur ansetzenden Spindelfasern das chromosomale Material nach ganzen Chromosomensätzen geordnet auf die Tochterkerne aufteilten; für diese Beobachtungen wurde der Ausdruck 'begrenzte Fehlverteilung' gewählt. Die Beobachtungen sind in Abbildung 60 schematisch dargestellt:
Die in der Polregion liegenden Zahlen geben den relativen DNS-Gehalt der jeweiligen, aus der entsprechenden Polregion hervorgegangenen Tochterkerne an. Die Regionen der begrenzten Fehlverteilung sind punktiert.
Die Summe des relativen DNS-Gehalts der beiden durch irreguläre Aufteilung entstandenen Tochterkerne entspricht jeweils dem ganzzahligen Vielfachen eines haploiden Chromosomensatzes. Neben dem Vorhandensein von zwei oder mehr Spindelpolen mit dadurch bedingter Spindelfaserinterferenz an den Chromosomen könnten auch andere, nur die entsprechende Seite der Metaphasenfigur betreffende Störungen der Spindelfunktion als Ursache der begrenzten Fehlverteilung in Betracht gezogen werden.

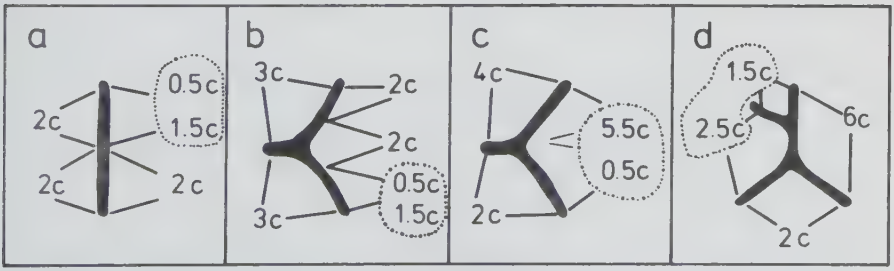


Abbildung 60: Schematische Darstellung multipolarer Mitosen mit 'begrenzter Fehlverteilung'
Zellen Nr. 86 (a), 71 (b), 83 (c), 73 (d)

III.25. Varianten der Aufteilung des chromosomalen Materials einkerniger und zweikerniger Zellen durch multipolare Mitosen

Die beobachteten Varianten der g e o r d n e t e n Verteilung des chromosomalen Materials ein- und zweikerniger Zellen durch multipolare Mitosen sind in Tab.44 wiedergegeben; ungeordnete Verteilungen wurden hier nicht berücksichtigt.
Unter den 57 multipolaren Mitosen mit geordneter Verteilung fanden sich 19.3 % mit dem Aufteilungsmodus 2c : 2c : 4c und 17.5 % mit dem Aufteilungsmodus 2c : 2c : 2c : 2c. Alle weiteren Verteilungsvarianten des chromosomalen Materials waren seltener vertreten: 8.8 % (3c : 2c : 3c), 7.0 % (1c : 2c : 3c) und 5.3 % (1c : 1c : 1c : 1c / 1c : 1c : 2c : 4c). Die übrigen Varianten wurden alle nur zweimal (3.5 %) oder einmal (1.7 %) beobachtet.

Im Vergleich mit den von anderen Autoren (s. Kapitel IV.10./Tab.50) aufgestellten Variantentabellen der geordneten Verteilung des chromosomalen Materials durch multipolare Mitosen fällt auf, daß die meisten Aufteilungsmodi nur sehr selten beobachtet werden konnten; dafür ist der Variantenreichtum hier jedoch außergewöhnlich groß. Prägnante Häufigkeitsmaxima finden sich nur in den oben erwähnten zwei Fällen (19.3 % und 17.5 %).

Tabelle 44: Varianten der Aufteilung des genetischen Materials ein- und zweikerniger Zellen durch multipolare Mitosen (multipolare Mitosen mit ungeordneter Verteilung wurden in die Tabelle nicht aufgenommen)

PLOIDIE der Mutterzelle	rel. DNS-Gehalt der Tochterkerne	Gesamt	einkernige Zellen	zweikernige Zellen
2 n	1 : 1 : 2	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	1 : 1 : 1 : 1	5.3 % (3)	-	6.2 % (3)
3 n	3 : 3	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	2 : 4	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	1 : 2 : 3	7.0 % (4)	-	8.3 % (4)
	2 : 2 : 2	1.7 % (1)	11.1 % (1)	-
4 n	2 : 2 : 4	19.3 % (11)	33.3 % (3)	16.7 % (8)
	2 : 3 : 3	8.8 % (5)	-	10.4 % (5)
	1 : 1 : 2 : 4	5.3 % (3)	11.1 % (1)	4.2 % (2)
	1 : 2 : 2 : 3	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	2 : 2 : 2 : 2	17.5 % (10)	33.3 % (3)	14.6 % (7)
5 n	5 : 5	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	2 : 4 : 4	3.5 % (2)	-	4.2 % (2)
	1 : 2 : 3 : 4	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	2 : 2 : 3 : 3	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
6 n	4 : 8	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	3 : 4 : 5	3.5 % (2)	-	4.2 % (2)
	4 : 4 : 4	3.5 % (2)	11.1 % (1)	2.1 % (1)
	3 : 3 : 3 : 3	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
7 n	2 : 2 : 3 : 3 :4	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
8 n	8 : 8	1.7 % (1)	-	2.1 % (1)
	4 : 4 : 4 : 4	5.3 % (3)	-	6.2 % (3)
		n = 57	n = 9	n = 48

III.26. Haploide Zellkerne und haploide Zellen

Bei der Messung des relativen DNS-Gehalts der Tochterkerne multipolarer Mitosen zeigte sich, daß insgesamt 40 Tochterkerne haploid bzw. ungefähr haploid waren (Tab.45). 90 % (36) der haploiden Kerne lagen in mehrkernigen Zellen, und nur 10 % (4) fanden sich in einkernigen Zellen.

Haploide einkernige Zellen wurden u.a. schon in Leukocytenkulturen von Didelphys virginiana (SINHA, 1967) und in Nierenepithelzellen des männlichen Rhesusaffen (RIZZONI et al., 1974) beschrieben.

Die Entstehung haploider Zell k e r n e durch multipolare Mitosen konnte in den in der Lebendbeobachtung verfolgten Lungenfibroblaste der Erdmaus in insgesamt 21 Fällen beobachtet werden; bipolare Mitosen indes führten in keiner Zelle zur Entstehung haploider Tochterkerne.

Die Entstehung e i n k e r n i g e r h a p l o i d e r bzw. ungefähr haploider Z e l l e n durch multipolare Mitosen wurde dreimal beobachtet (* in Tab.45). Die einkernigen haploiden Zellen waren lebensfähig; sie unterschieden sich von ihren diploiden und triploiden Schwesterzellen nicht.

Jedoch können über die Lebensfähigkeit haploider Zellkerne und haploider Zellen keine quantitativen Angaben gemacht werden, da die Ploidie der abgestorbenen, möglicherweise haploiden Tochterzellen multipolarer Mitosen nicht ermittelt werden konnte.

Die Teilungsfähigkeit haploider Zellkerne konnte in sechs Fällen mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden: Es handelte sich hierbei um die Mitosen diploider zweikerniger Zellen, deren beide Zellkerne gleich groß - also wahrscheinlich haploid oder fast haploid - waren (Tab.46). Vier von sechs diploiden zweikernigen Zellen (mit je zwei haploiden Zellkernen) teilten sich selbst wieder in Tochterzellen mit haploiden Zellkernen; jeweils wenigstens eine dieser Tochterzellen enthielt zwei haploide Zellkerne.

Im Gegensatz zur Teilungsfähigkeit haploider K e r n e (die in mehrkernigen Zellen lagen) konnte die Teilungsfähigkeit haploider einkerniger Z e l l e n nicht beobachtet werden, da die unter-

Tabelle 45: Entstehung haploider und fast haploider Zellkerne durch multipolare Mitosen
(!) = hier lagen möglicherweise zwei haploide Kerne in der diploiden Zelle
* = Entstehung einkerniger haploider Tochterzellen
Pseutri = Pseudotripolare Mitose

Kultur-Nr.	Listen-Nr. (Tab.1)	ZELLE → Kerne	Ploidie	MITOSE → Strahlen	Pole	TOCHTERZELLEN
65	6	1	ca. 4n	2 oder 3	4 (5)	(1c 1c) (4c mn/mn/mn) (2c)
65	10	1	ca. 6n	3	5	(1^+c 1^+c) (1^+c 4c 4^+c)
104	38	1	4n	2 oder 3	4	(1c 1c) (2c) (4c)
104	57	2	4n	3	4	(1c 1c) (2c) (4c)
104	64	2	5n	3	4	(1c 2c) (3c) (4c)
104	67	2	4n	2 oder 3	4	*(1c) (3c) (2c 2c)
104	88	2	3n	3	3 Pseutri	(1c 2c) (3c)
104	130	2	4n	2 oder 3	4	(1c 1c) (2c) (4c)
104	139	2	2n (!)	3	4 Pseutri	(1c 1c) (1c 1c)
104	143	2	3n	3	3 Pseutri	(1c 2c) (3c)
104	145	2	3n	3	3	(1c 3c) (2c)
65	174	2	4n	2 oder 3	5	*(1^-c) (1^+c) (2c) (2c) (2c)
65	180	2	3n	4	4	(1c 1^+c) (1^+c 2c)
65	182	2	3n	3	3	(1c 2c) (3c)
65	184	2	17n	3	6	1^-c 3^+c 3^+c 8c 9c mn

Fortsetzung von Tabelle 45

Kultur-Nr.	Listen-Nr. (Tab.1)	ZELLE → Kerne	Ploidie	MITOSE → Strahlen	Pole	TOCHTERZELLEN
65	186	2	6n	3	4	$1^{+}c\ 2^{+}c\ 2^{+}c\ 5^{-}c$
65	187	2	6n	3	4	$(1^{-}c\ 5^{+}c)$ (2c) (4c)
65	200	2	ca. 4n	3	4	(1c 3c) (2c) $(3^{-}c)$
65	207	2	2n (!)	1	4	(1c 1c) (1c 1c)
65	208	2	2n	2 oder 3	4	*(1c) (1c) (1c 1c)
65	209	2	2n (!)	1	3	(1c 1c) (2c)

Tabelle 46: Mitosen diploider zweikerniger Zellen, die zwei ungefähr gleich große (haploide ?) Kerne besaßen

Kultur-Nr.	Listen-Nr. (Tab.1)	ZELLE → Kerne	Ploidie	MITOSE → Strahlen	Pole	TOCHTERZELLEN
104	102	2	2n	1	2	(2c) (2c)
104	139	2	2n	3	4 Pseutri	(1c 1c) (1c 1c)
104	140	2	2n	1	2	(2c) (2c)
65	207	2	2n	1	4	(1c 1c) (1c 1c)
65	208	2	2n	2 oder 3	4	*(1c) (1c) (1c 1c)
65	209	2	2n	1	3	(1c 1c) (2c)

suchten haploiden Zellen entweder in der frühen Interphase fixiert wurden oder Besonderheiten aufwiesen, die eine Teilungsfähigkeit zwar nicht ausschließen, sie jedoch auch nicht sehr wahrscheinlich erscheinen lassen. Bei diesen einkernigen haploiden (?) Zellen handelte es sich um einkernige Zellen, die spät in der Interphase (15.67 h nach der Anaphase) fixiert wurden (vgl. Kap.III.14 h, Abb.44). Zu diesem Zeitpunkt wiesen sie den relativen DNS-Gehalt 1c auf; möglicherweise handelte es sich hier um haploide Zellen, die die S-Phase noch nicht erreicht hatten und sich noch in der G_1- bzw. G_0-Phase befanden. Diese Beobachtung stimmt mit der Tatsache überein, daß die Züchtung von haploiden Säugetierzellen bisher noch nicht gelungen ist. Lediglich bei Kaltblüterzellen (Frosch) war dies möglich (FREED, 1962).
Haploide Metaphasen, die in Säugerzellkulturen gefunden wurden (PALITTI und RIZZONI, 1972; PERA und RAINER, 1974; RIZZONI et al., 1974) können nicht als Indiz für die Teilungsfähigkeit haploider Zellen gewertet werden, da es sich hier wahrscheinlich um haploide Metaphasen mehrkerniger Zellen handelte (PERA und RAINER, 1973).

III.27. Somatische Reduktion durch multipolare Mitosen

Die durch die cytophotometrische Bestimmung des relativen DNS-Gehalts ermittelte Ploidie der Tochterkerne multipolarer Mitosen war in der Regel geringer als die Ploidie der Mutterzelle. Im Gegensatz zu bipolaren Mitosen führten multipolare Mitosen somit zu einer somatischen Reduktion.
Insgesamt 88.1 % aller untersuchten Tochterkerne multipolarer Mitosen (n = 286) zeigten eine Ploidiestufe, die unter der der Mutterzelle lag (Tab.47); hierbei fanden sich praktisch keine Unterschiede zwischen den Tochterkernen der multipolaren Mitosen einkerniger (87.5 %) und zweikerniger (88.2 %) Mutterzellen.
Insgesamt 11.2 % der Tochterkerne gehörten der Ploidieklasse ihrer Mutterzelle an. Auch hier fanden sich nur geringe Unterschiede zwischen den Tochterkernen der multipolaren Mitosen einkerniger (12.5 %) und zweikerniger (11.0 %) Mutterzellen.

Nur 0.7 % aller Tochterkerne multipolarer Mitosen hatten eine höhere Ploidie als ihre Mutterzelle.

Tabelle 47: Somatische Reduktion durch multipolare Mitosen einkerniger und zweikerniger Zellen

PLOIDIE der Tochterkerne multipolarer Mitosen	MULTIPOLARE MITOSEN einkerniger Mutterzellen	zweikerniger Mutterzellen	Gesamt
K L E I N E R als die Ploidie der Mutterzelle	87.5 % (35)	88.2 % (217)	88.1 % (252)
G L E I C H der Ploidie der Mutterzelle	12.5 % (5)	11.0 % (27)	11.2 % (32)
G R Ö S S E R als die Ploidie der Mutterzelle	-	0.8 % (2)	0.7 % (2)
	n = 40	n = 246	n = 286

III.28. Ploidie der Tochterzellen multipolarer Mitosen

Obwohl der relative DNS-Gehalt der Tochterkerne multipolarer Mitosen in der Regel kleiner ist als der ihm entsprechende Ploidiegrad der Mutterzelle (Tab.47), führt nicht jede multipolare Mitose zur somatischen Reduktion des genetischen Materials in allen Tochterzellen, da nicht selten zwei oder mehrere Tochterkerne in einem gemeinsamen Cytoplasma liegen. Die Gesamt-Ploidie dieser Zelle kann - trotz geringerer Ploidiestufen der Einzelkerne - die Ploidie der Mutterzelle übertreffen.
Tabelle 48 zeigt, daß insgesamt 63.3 % der ausgewerteten Tochterzellen multipolarer Mitosen (n = 218) Produkte einer 'echten'

Tabelle 48: 'Echte' somatische Reduktion (= Reduktion der Mutterzellploidie zur Tochter-z e l l ploidie, nicht jedoch zur Tochter k e r n ploidie wie in Tab.47) durch multipolare Mitosen

PLOIDIE der Tochterzellen multipolarer Mitosen	MULTIPOLARE MITOSEN mit ein-strahligen Metaphasen	zwei- u. drei-strahligen Metaphasen	vier- und mehr-strahligen Metaphasen	Gesamt
K L E I N E R als die Ploidie der Mutterzelle	43.6 % (17)	70.2 % (101)	57.1 % (20)	63.3 % (138)
G L E I C H der Ploidie der Mutterzelle	51.3 % (20)	21.5 % (31)	25.7 % (9)	27.5 % (60)
G R Ö S S E R als die Ploidie der Mutterzelle	5.1 % (2)	8.3 % (12)	17.2 % (6)	9.2 % (20)
	n = 39	n = 144	n = 35	n = 218

somatischen Reduktion sind: Die Ploidie dieser Tochter z e l l e n ist geringer als die Ploidie ihrer jeweiligen Mutterzelle. In 27.5 % stimmen Ploidie von Mutter- und Tochterzelle überein; und nur in insgesamt 9.2 % ist die Ploidie einer Tochterzelle größer als die Ploidie ihrer Mutterzelle.
Da sich diese Angaben alle nur auf jeweils eine Tochterzelle einer multipolaren Mitose beziehen, ist es durchaus möglich, daß aus ein und derselben multipolaren Mitose Tochterzellen mit im Vergleich zur Mutterzelle höheren, niedrigeren und gleichen Ploidiegraden hervorgegangen sind. Multipolare Mitosen können somit gleichzeitig zur somatischen Reduktion und zur somatischen Polyploidisierung führen.
Aus Tabelle 48 geht weiterhin hervor, daß insbesondere die zwei- und dreistrahligen Mitosen zu einer 'echten' somatischen Reduktion führen: 70.2 % von 144 der aus zwei- und dreistrahligen Mitosen hervorgegangenen Tochterzellen haben eine geringere Ploidie als ihre Mutterzelle. In einstrahligen multipolaren Mitosen ist die entsprechende Quote geringer: Hier haben nur 43.6 % aller Tochterzellen eine geringere Ploidie als die Mutterzelle. Die Tochterzellen vier- und mehrstrahliger Mitosen weisen in 57.1 % eine geringere Ploidie als ihre Mutterzelle auf; dagegen ist der Anteil der Tochterzellen mit größerer Ploidiestufe in der Gruppe der vier- und mehrstrahligen Mitosen mehr als doppelt so groß (17.2 %) wie in den anderen Gruppen. Tochterzellen, deren Ploidie mit der Ploidiestufe ihrer Mutterzelle übereinstimmt, gehen besonders häufig aus einstrahligen Metaphasen mit mehreren Spindelpolen hervor (51.3 %); bipolare einstrahlige (d.h. 'normale') Metaphasen wurden nicht in die Tabelle aufgenommen.
In Tabelle 48 wurden die Metaphasenfiguren multipolarer Mitosen als Einteilungskriterium gewählt, da in multipolaren Mitosen neben den Spindelpolen auch die Äquatorialplatte die cytokinetische Durchschnürung des Zelleibs induzieren kann (MAZIA, 1961) und somit für Anzahl der Tochterzellen und Anzahl der Kerne pro Tochterzelle von großer Bedeutung ist.
Unter dieser Voraussetzung müßte der Anteil 'echter' Reduktionen in der Gruppe der vierstrahligen multipolaren Mitosen besonders

hoch und der Anteil der Tochterzellen mit höherer Ploidie somit besonders niedrig sein. Dies trifft jedoch nicht zu. Als Erklärung kommt insbesondere die Kernfusion in Betracht: In vier- und mehrstrahligen multipolaren Mitosen, die häufig hoch-polyploid sind, liegen die Spindelpole wahrscheinlich so nahe nebeneinander, daß Fusionen von Telophaseteilen nicht selten sind. Außerdem sind hier die vielen Schwesterzellen der vierstrahligen multipolaren Mitose am Ende der Telophase so eng gruppiert, daß eine (durch die Lage der Spindelpole bedingte ?) angedeutete Cytokinese nicht immer zu Ende geführt werden kann, und die noch über breite oder schon sehr schmale Cytoplasmabrücken verbundenen Schwesterzellen re-fusionieren.
In einstrahligen multipolaren Mitosen dürften demnach diese Vorgänge weitaus seltener sein: Tatsächlich zeigen nur 5.1 % der Tochterzellen einstrahliger multipolarer Mitosen einen höheren Ploidiegrad als die Mutterzelle. In 51.3 % der Tochterzellen stimmt die Ploidie mit der der Mutterzelle überein. Dies kann vor allem mit dem hohen Anteil an Parallelmitosen unter den einstrahligen multipolaren Mitosen erklärt werden: In vielen dieser Parallelmitosen stehen mehrere Spindelpole auf der einen Seite einem einzigen Pol (Doppelpol in einer einzigen Polregion?) auf der anderen Seite der Metaphasenfigur gegenüber. Der aus diesem Pol möglicherweise auch durch Kernfusion hervorgegangene Tochterkern hat häufig dieselbe Ploidie wie seine Mutterzelle, eine Reduktion erfolgt somit nicht.
Zwei- und dreistrahlige Metaphasen multipolarer Mitosen stellen eine für die 'echte' somatische Reduktion besonders günstige Spindelform dar: Es ist gut denkbar und auch aus fixierten Präparaten (PERA, 1975) ersichtlich, daß die Spindelpole in diesen Metaphasen eine für die somatische Reduktion (aufgrund eines großen Pol-Pol-Abstandes erfolgt hier keine telophasische Kernfusion) und die folgende Cytokinese (großer Pol-Äquatorialplattenzentrum-Pol - Winkel, der möglicherweise eine telophasische Re-fusion von Schwesterzellen erschwert) günstige räumliche Anordnung erreicht haben.

III.29. Lage der Tochterkerne multipolarer Mitosen

In Abbildung 61 sind die Tochterkerne multipolarer Mitosen nach ihrem relativen DNS-Gehalt und nach ihrer Lage in einkernigen, zweikernigen und drei- und mehrkernigen Zellen aufgeschlüsselt.

Die Mehrzahl der diploiden, triploiden und tetraploiden Tochterkerne multipolarer Mitosen liegt in einkernigen Zellen, ein weit geringerer Prozentsatz in zweikernigen und weniger als 20 % in drei- und mehrkernigen Zellen.
Haploide Tochterkerne multipolarer Mitosen jedoch liegen zu 73.3 % in zweikernigen Zellen. 11.1 % der haploiden Kerne werden zusammen mit zwei und mehr Schwesterkernen im selben Cytoplasma gefunden.
Hoch-polyploide Tochterkerne multipolarer Mitosen liegen vornehmlich in einkernigen Zellen (83.3 %) und nur je 8.3 % in zwei- bzw. mehrkernigen Zellen.

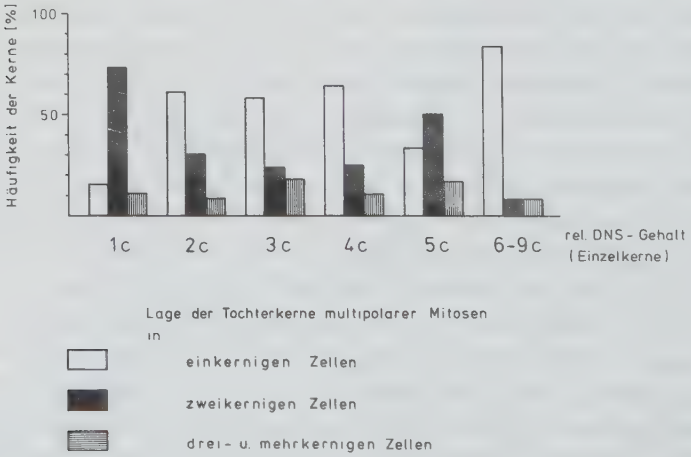


Abbildung 61: Lage der Tochterkerne multipolarer Mitosen in einkernigen, zweikernigen oder drei- und mehrkernigen Zellen; Einteilung nach Ploidie (rel. DNS-Gehalt) der Tochterkerne

IV. Diskussion

IV.1. Kernsynchronie

Die in dieser Arbeit vorgelegten Untersuchungen über das mitotische Verhalten polyploider Zellen wurdenzu einem wesentlichen Teil an zwei- , und in wenigen Fällen auch an dreikernigen Zellen durchgeführt. Die Lebendbeobachtungen ergaben, daß die von einem gemeinsamen Cytoplasma umgebenen Zellkerne in der Regel schon zu Beginn der Mitose durch einen hohen Synchroniegrad ausgezeichnet waren, der als Zeichen des koordinierenden Einflusses des Cytoplasmas gewertet werden kann (Übersicht bei PERA, 1970).
Der erste Hinweis dafür, daß die beiden Kerne einer zweikernigen Zelle gleichzeitig die Mitose beginnen, findet sich bei TREUB (1879). Heute sieht man generell im synchronen Verhalten von Zellkernen mehrkerniger Pflanzen- und Tierzellen sowohl während der S-Phase als auch während sämtlicher Mitosephasen eher die Regel als die Ausnahme (KRISHAN und RAY-CHAUDHURI, 1969).
Diese Feststellung über den hohen Synchroniegrad natürlich vorkommender und künstlich erzeugter mehrkerniger Zellen und Syncytien wird durch zahlreiche Untersuchungen bestätigt (FLEMMING, 1880; FELL und HUGHES, 1949; NAKANISHI und NAKAHORA, 1956; GUTTES et al., 1961; MAZIA, 1961; MELANDER, 1963; HARRIS, 1965; HARRIS et al., 1966; RUSCH et al., 1966; YAMANAKA und OKADA, 1966, 1968; CHURCH, 1967; GONZALEZ, 1967; MITSUHASHI, 1967; OFTEBRO und WOLF, 1967; FERNANDEZ-GOMEZ, 1968; PERA und SCHWARZACHER, 1968; JOHNSON und HARRIS, 1969, KRISHAN und RAY-CHAUDHURI, 1969; WESTERVELD, 1969; HARRIS, 1970; PERA, 1970; RAO und JOHNSON, 1970; GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 1971; JOHNSON und RAO, 1971; BENBABIS et al., 1974; APPELS, 1975), wenngleich auch zahlreiche Hinweise dafür existieren, daß S-Phase und Prophasebeginn in mehrkernigen Zellen nicht immer völlig synchron, teilweise sogar hochgradig asynchron verlaufen können (HOLDEN und MOTA, 1956; DeTERRA, 1960; HOWARD und DEWEY, 1960; NILOVA und SUKHANOVA, 1964; STUBBLEFIELD,

1964; HARRIS und WATKINS, 1965; GIMENEZ-MARTIN et al., 1968; SANDBERG et al., 1966; CARTER, 1967; HERVAS, 1976; KATO und SANDBERG, 1967; OFTEBRO und WOLF, 1967; FERNANDEZ-GOMEZ, 1968; JOHNSON und HARRIS, 1969; KRISHAN und RAY-CHAUDHURI, 1969; PERA, 1970; RAO und JOHNSON, 1970; JOHNSON und RAO, 1971; HENEEN, 1971; BENBABIS et al., 1974; GHOSH et al., 1978). Es soll hier allerdings darauf hingewiesen werden, daß die Mehrzahl dieser Befunde an Zellen erhoben wurde, die vorher einer Behandlung mit Koffein (HOWARD und DEWEY, 1960; GIMENEZ-MARTIN et al., 1968), Cytochalasin B (CARTER, 1967; KRISHAN und RAY-CHAUDHURI, 1969), Colchicin (STUBBLEFIELD, 1964; SANDBERG et al., 1966; KATO und SANDBERG, 1967, 1968) oder anderen Chemikalien unterzogen worden waren und somit möglicherweise wesentliche Veränderungen ihres inneren Milieus erfahren hatten.

Aussagen über die synchrone oder asynchrone DNS-Synthese in Zellkernen mehrkerniger Zellen konnten aufgrund der Lebendbeobachtung nicht gemacht werden; cytophotometrische Untersuchungen an Interphasekernen zweikerniger Zellen waren nicht aussagekräftig, da die Meßgenauigkeit zur Feststellung auch geringgradiger Synchroniedifferenzen im DNS-Synthesevorgang der beiden Zellkerne zu gering war. PERA (1970) konnte jedoch in Zellkulturen der Erdmaus feststellen, daß 10 % der zweikernigen Zellen während der DNS-Synthese ein asynchrones Verhalten aufwiesen, wogegen sich alle anderen zweikernigen Zellen während des Zellzyklus bis auf wenige Minuten völlig synchron verhielten. BENBABIS et al.(1974) beschrieben ein asynchrones Syntheseverhalten sogar in 20 % der von ihnen beobachteten zweikernigen Pflanzenzellen.

Aufgrund des in den meisten Fällen deutlich erkennbaren, kontinuierlich zunehmenden Kondensierungsgrades der Prophasechromosomen ist es während der Lebendbeobachtung möglich, selbst kleinste Synchroniedifferenzen im Prophasegeschehen der Zellkerne mehrkerniger Zellen zu verfolgen. Die Lebendbeobachtungen zeigten, daß zu Beginn der Prophase in 89.7 % der zweikernigen Zellen beide Zellkerne völlig synchronisiert waren; nur 10.3 % dieser Zellen ließen asynchrone Prophasekernpaare erkennen.

Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen von PERA (1970) überein, der in zweikernigen Microtus-Fibroblasten zu Beginn der Prophase 90 % synchrone und 10 % asynchrone Kernpaare vorfand. Von den hier beschriebenen, in der Lebendbeobachtung verfolgten dreikernigen Zellen zeigten sieben einen synchronen und eine einen leicht asynchronen Prophasebeginn; die Zellkerne waren hier stets eng aneinandergerückt (vgl. Abb. 16).
Die zeitlichen Differenzen zwischen den Kernen asynchroner Paare betrugen selten mehr als fünf Minuten, was daran erkennbar war, daß nach diesem Zeitraum der in der Entwicklung (= Kondensationsgrad der Chromosomen) verlangsamte Kern das Stadium des weiter fortgeschrittenen Kerns erreicht hatte. Ungefähr ein Drittel der asynchronen Kernpaare wies jedoch größere Differenzen im Synchronieverhalten auf, die bis auf eine Ausnahme zwischen 5 und 15 Minuten schwankten. Da auch in diesen asynchronen Kernpaaren - wie der Kondensierungsgrad der Chromosomen erkennen ließ - der schnellere Kern scheinbar unbeeinflußt bis zum Ende des Prophasestadiums vorrücken konnte und hier solange verharrte, bis der langsamere Kern ebenfalls dieses Stadium erreicht hatte, entstand der Eindruck vom "Warten" des schnelleren auf den langsameren Kern, zumal in den asynchronen Zellen die Prophasezeit im Vergleich mit synchronen Paaren in der Regel deutlich verlängert war (Tab.6 und 7): In den Zellen mit sehr hohem Asynchroniegrad zu Beginn der Mitose betrug die durchschnittliche Prophasedauer 40.8 $\pm$ 2.1 min, dagegen wiesen Zellen mit weniger großer Synchroniedifferenz eine Prophasedauer von 28.1 $\pm$ 12.5 min auf. In zweikernigen Zellen mit synchronem Prophasebeginn dauerte die Prophase dagegen nur 20.96 $\pm$ 7.9 min.
Alle beobachteten asynchronen mehrkernigen Zellen waren spätestens bis zum Ende der Prophase vollständig synchronisiert: Erst zu diesem Zeitpunkt wurden die Kernmembranen der einzelnen Zellkerne gleichzeitig aufgelöst, und die Chromosomen konnten zu einer gemeinsamen Metaphasenplatte (hier stets als 'pro'-metaphasische Gruppierung u.ä. bezeichnet) konfluieren. Abweichungen von diesem Kernverhalten fanden sich nicht. Dasselbe, hier charakterisierte Prophaseverhalten asynchroner zweikerniger Zellen wurde auch von

zahlreichen anderen Autoren (DeTERRA, 1960; OFTEBRO und WOLF, 1967; GIMENEZ-MARTIN et al., 1968; SANDBERG et al., 1966; JOHNSON und HARRIS, 1969; KRISHAN und RAY-CHAUDHURI, 1969; RAO und JOHNSON, 1970; HERVAS, 1976) beschrieben.
Asynchrone Mitosen zwei- und mehrkerniger Zellen, in denen ein Zellkern schon das Metaphasestadium erreicht hatte, während der andere Kern noch im Prophasestadium verharrte, konnten nicht beobachtet werden. Tatsächlich sind derartige Asynchroniedifferenzen als seltene Ausnahme zu betrachten: Zum ersten Mal berichteten GHOSH et al.(1978) von asynchronen Prophase/ M e t a phase-Kernpaaren. In durch Zellfusion erzeugten Heterokaryonten (menschliche Fibroblasten und PtK_2-Zellen) konnten PETERSON und BERNS (1979) sogar beobachten, wie ein Kern das Metaphase- oder Anaphasestadium erreichte, während der andere sich noch in der Interphase befand.

Die Frage, warum in zweikernigen Zellen sowohl ein synchroner als auch ein asynchroner Prophasebeginn beobachtet werden kann, ist nicht eindeutig zu klären. PERA (1970) hält es für möglich, daß wenigstens einige der asynchronen zweikernigen (Prophase)-Zellen erst relativ kurze Zeit vor Mitosebeginn durch Fusion von zwei einkernigen Zellen mit unterschiedlichen Zellzyklusstadien entstanden sein könnten. Da die Herstellung einer Kernsynchronie in durch Fusion entstandenen mehrkernigen Zellen eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt, ist es denkbar, daß hier tatsächlich die Fusion von Zellen unterschiedlicher Zyklusstadien als Ursache eines asynchronen Prophasebeginns anzusehen ist.
Synchrones Mitoseverhalten u n d Ausbildung einer mehrpoligen Spindelfigur werden in mehrkernigen Zellen nicht selten als zwei scheinbar zusammenhängende Mitosephänomene beschrieben (LEVIS, 1962; LEVIS und MARIN, 1963; OFTEBRO und WOLF, 1967; OFTEBRO, 1968). Nach den in dieser Arbeit erhobenen Befunden ist jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen KERNSYNCHRONIE (d.h. synchronem bzw. asynchronem Prophasebeginn und -verlauf) und Ausbildung eines MULTIPOLAREN Spindelapparates festzustellen.

Schon FLEMMING (1880), der die Teilungssynchronie mehrkerniger Zellen im Hodenseptum und in den Kiemenblättern von Salamandra und in der Leber des Schweins und des Kaninchens beschrieb, zog bestimmte cytoplasmatische Regulationsfaktoren als letztlich für den synchronen Mitosebeginn der Zellkerne verantwortliche Steuerungsmechanismen in Erwägung. Mit dieser von FLEMMING postulierten Hypothese eines auf alle Kerne einwirkenden cytoplasmatischen Faktors lassen sich Beobachtungen erklären, die eine Synchronie des Mitosebeginns nicht nur in vielkernigen Zellen und Syncytien sondern auch in Zellverbänden zeigen, deren ehemals gemeinsames Cytoplasma bis auf schmale, nur noch elektronenmikroskopisch erkennbare Brücken durchtrennt ist (TREUB, 1879; FAWCETT et al., 1959; HESLOP-HARRISON, 1964; POSTWALD, 1967). Auch das Wandern eines 'mitotischen Impulses' in vielkernigen Zellen (MAHLBERG und SABHARWAL, 1967) und in durch Cytoplasmabrücken verbundenen Zellverbänden (CONE, 1969) wird als Indiz für einen cytoplasmatischen Gradienten eines die Mitose initiierenden intrazellulären Faktors interpretiert (HOLDEN und MOTA, 1956).
Neben Fusionsexperimenten an Zellen mit Kernen unterschiedlicher Zyklusphasen (DeTERRA, 1960; GOLDSTEIN und PRESCOTT, 1966; HARRIS, 1970) und Beobachtungen von Zellverbänden, deren einziger Zusammenhalt in schmalen Cytoplasmabrücken besteht (BURGOS und FAWCETT, 1955; FAWCETT, 1961), dienen vor allem biochemische Untersuchungen dem Nachweis eines den Mitosebeginn steuernden cytoplasmatischen Faktors (Übersicht bei MAZIA, 1961; GRUNDMANN, 1971; RAO et al., 1975).
Durch Hemmung der Proteinsynthese mit Puromycin gelang es TAYLOR (1963), in Tumorzellen eines menschlichen Zellstammes selektiv die G_2-Phase zu verlängern. TAYLOR schloß aus seinen Befunden auf das Vorhandensein eines für den Mitosebeginn verantwortlichen, spezifischen Enzyms, durch welches die Auslösung der Prophase induziert oder eine Induktion vermittelt wird.
Die Existenz eines solchen "Teilungsproteins" (ZEUTHEN, 1961) wurde inzwischen in verschiedenen Zellen und Zellverbänden beschrieben (WATANABE und IKEDA, 1965 a,b,c), nachgewiesen (DONNELLY und SISKEN, 1967) und näher untersucht (TOBEY et al., 1967)

- allerdings liegen auch Befunde vor, die mit der gegenwärtigen Auffassung von Entstehung, Aufbau und Funktion des Teilungsproteins nur schwer in Einklang zu bringen sind (GOLDSTEIN, 1958; BUCK et al., 1967).
Vor allem Bildungsort und Lokalisation des die Prophase initiierenden Stimulus sind noch ungeklärt. Wenigstens drei Modelle erscheinen möglich (RUSCH et al., 1966):

1) Der Zeitpunkt des Prophasebeginns ist im Kern selbst als Teil einer biologischen Uhr genetisch determiniert und löst zu festgelegten Zyklusstadien - direkt oder indirekt über ein Teilungsprotein - mitotische Kernteilungen aus.
Gegen diese Möglichkeit sprechen jedoch Fusionsexperimente, die zeigen, daß der Mitosebeginn eines Zellkerns durchaus durch den in einer anderen Zellzyklusphase befindlichen transplantierten Kern beschleunigt oder verlangsamt werden kann (z.B. RAO und JOHNSON, 1970).
2) Der die Mitose initiierende Faktor wird in einem einzigen Zellkern gebildet und diffundiert von hier zu den übrigen Kernen der mehrkernigen Zelle - so wie es GOLDSTEIN (1958) in Amoeba proteus nachweisen konnte. Dieser Mechanismus würde auch das Phänomen der 'Mitosewellen' in vielkernigen Zellen plausibel machen.
Es erscheint jedoch schwer vorstellbar, daß die Ausbreitung des in nur einem Kern gebildeten mitotischen Synchroniefaktors schnel genug erfolgen kann, um für den selbst in Syncytien mit weit auseinanderliegenden Zellkernen beobachteten hohen Synchroniegrad verantwortlich gemacht werden zu können. CONE (1969) beispielsweise stellte eine Wanderungsgeschwindigkeit des mitotische Impulses von ca. 6 µm/sec fest; aufgrund dieser relativ hohen Geschwindigkeit dürfte der Impuls wohl kaum mit einem (wahrscheinlich weit langsamer) von Kern zu Kern diffundierenden Teilungsprotein oder einer anderen Substanz identisch sein.
Die in dieser Arbeit vorgelegten Befunde widersprechen der Theorie des von einem einzigen Kern ausgehenden Mitosestimulus jedoch nicht, da die beobachteten Zellkerne schon am Ende der Interphase so eng nebeneinanderlagen, daß nur in wenigen Fällen

noch eine Diffusionsstrecke in Form eines schmalen Cytoplasmastreifens ('internukleärer Spalt') zwischen beiden Kernen erkennbar war. Ein Diffundieren des von einem Kern gebildeten Faktors zu dem anliegenden Nachbarkern kann hier somit als Ursache des hohen Synchroniegrades nicht ausgeschlossen werden.
3) Der Mitosestimulus wird im Cytoplasma selbst gebildet und kann von hier aus auf alle Zellkerne fast gleichzeitig einwirken (GUTTES und GUTTES, 1963).
RUSCH et al.(1966) halten aufgrund ihrer Untersuchungen an fusionierten Plasmodien von Physarum polycephalum diesen Mechanismus für den wahrscheinlichsten und bestätigen damit die schon von STRASBURGER (1882) gemachte Beobachtung: "Das Cytoplasma regt aber die Vorgänge zu der indirecten Kerntheilung an. Das beweist nicht nur die gleichzeitige Theilung der Zellkerne in vielkernigen Zellen höherer Pflanzen, sondern auch die häufig festzustellende Ansammlung von Cytoplasma um den Zellkern vor Beginn der Kerntheilung .... Ich bleibe somit bei meiner schon früher ausgesprochenen Auffassung, dass der Zellkern die Zelltheilung nicht beherrscht. Ich meine vielmehr, dass in allen Fällen, wo Kern- und Zelltheilung zusammenfallen, die Kerntheilung durch das Cytoplasma angeregt wird...." (S. 107/108).
GIMENEZ-MARTIN et al.(1968) und GONZALEZ-FERNANDEZ et al.(1971) konnten in vielkernigen Pflanzenzellen feststellen, daß tatsächlich der jeweils vom größten Cytoplasmabezirk umgebene, häufig von den anderen Zellkernen etwas abseits gelegene Kern als erster die S-Phase beendete und auch als erster die Prophase begann, was möglicherweise die direkte Wirkung eines erhöhten Angebots an Metaboliten war.

Der Wirkungsmechanismus des für den synchronen Prophasebeginn mehrkerniger Zellen verantwortlichen cytoplasmatischen Faktors konnte durch Fusionsexperimente und durch Beobachtungen vielkerniger Zellen näher charakterisiert werden (WEISZ, 1956; DeTERRA, 1960; GIMENEZ-MARTIN et al., 1968; GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 1971; RAO und JOHNSON, 1970; RAO et al., 1975): Transplantiert man z.B. den Makronukleus eines Stentor in der G_2-Phase in ein anderes Individuum, dessen Kern gerade ein

früheres Zyklusstadium durchläuft, so wartet der Makronukleus in diesem Stadium mit dem weiteren Verlauf seiner Entwicklung so lange, bis der Zellkern des Wirtes das gleiche Stadium erreicht hat (DeTERRA, 1960).
Durch Fusion einkerniger Zellen unterschiedlicher Zellzyklusstadien erzeugten RAO und JOHNSON (1970) und RAO et al.(1975) mehrkernige Homokaryonten, in denen die Interaktion der Interphasekerne bezüglich der Länge ihres Zellzyklus genauer untersucht werden konnte. Die Ergebnisse zeigen, daß ein G_1-Kern einen im selben Cytoplasma gelegenen G_2-Kern am Eintritt in die Mitose hindert. Ähnliches gilt für S/G_2-Kernpaare, in denen der S-Phase-Kern die G_2-Phase des anderen Kerns verlängert, selbst aber durch den G_2-Kern zu einer etwas kürzeren S-Phase angeregt wird. In S/G_1-Kernpaaren wird die G_1-Phase des einen Kerns durch den S-Kern verkürzt. Das Warten der im Zellzyklus weiter fortgeschrittenen Kerne ("early nuclei") wird hier als Folge eines Hemmfaktors gewertet, der möglicherweise von dem im Zellzyklus verlangsamten Kern ausgeht (z.B. GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 1971).
Die in dieser Arbeit beschriebenen Beobachtungen des Synchronieverhaltens zwei- und dreikerniger Zellen während der frühen Mitosestadien stimmen mit den Befunden von DeTERRA (1960), GIMENEZ-MARTIN et al.(1968), GONZALEZ-FERNANDEZ et al.(1971) und HENEEN (1971) überein. Im Gegensatz zu einigen Befunden von JOHNSON und RAO (1971) und RAO et al.(1975) konnte von diesen Autoren nämlich beobachtet werden, daß in vielkernigen Homokaryonten der Mitosebeginn durchaus durch den im Zellzyklus am weitesten fortgeschrittenen G_2-Kern ("early nucleus") eingeleitet werden kann, ohne daß in den restlichen, im Zellzyklus verlangsamten S- oder G_2-Kernen ("late nuclei") eine vorzeitige Chromatinkondensierung (premature chromatin condensation, PCC) eintritt. GONZALEZ-FERNANDEZ et al.(1971) schließen daraus, daß der mitoseinduzierende Faktor keinen Einfluß auf die verlangsamten Kerne ausübt; diese Kerne wiederum scheinen jedoch in der Lage zu sein, ihrerseits die Entwicklung der fortgeschrittenen Kerne während der Prophase so lange hemmend zu beeinflussen bzw. zu stoppen, bis sie selbst dasselbe Prophasestadium erreicht haben

Dies mag bewirken, daß in vielkernigen Zellen alle Kerne gleichzeitig in die Prometaphase (deren Beginn durch den Zusammenbruch der Kernmembran charakterisiert ist) eintreten und von hier ab sämtliche Mitosestadien synchron durchlaufen können.
Dieser von GONZALEZ-FERNANDEZ et al.(1971) ausführlich diskutierte mitotische Synchronisierungsmechanismus wird durch die Lebendbeobachtungen asynchroner zweikerniger Lungenfibroblasten während der frühen Mitosestadien bestätigt: In diesen Zellen fand sich eine gegenüber den synchronen zweikernigen Fibroblasten deutlich verlängerte Prophasezeit (Kap.III.9.); das Ende der Prophase stellte stets den letztmöglichen Asynchroniepunkt bzw. das Ende einer Synchronisierungsphase dar, mit der in zwei- und dreikernigen Zellen ein völlig synchroner Ablauf der mitotischen Ereignisse einsetzte.
Für den während der Prophase erfolgenden Synchronisierungsvorgang machen GONZALEZ-FERNANDEZ et al.(1971) einen hypothetischen Hemmfaktor verantwortlich, der von dem langsameren Kern gebildet wird und den schnelleren Kern so lange in seiner (prophasischen) Entwicklung stoppt, bis der langsamere Kern den zeitlichen Vorsprung aufgeholt hat und beide Kerne synchron das Metaphasestadium durch Auflösung der Kernmembran beginnen können.
Die während der Interphase und während der Mitose an mehrkernigen Zellen durchgeführten Untersuchungen lassen es somit wahrscheinlich erscheinen, daß der letztlich eine synchrone Anaphase der Chromosomen mehrerer Zellkerne ermöglichende Synchronisierungsmechanismus aus wenigstens zwei Komponenten besteht (GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 1971):
1) Eine Komponente, die schon während der Interphase zu einer Verkürzung der G_2-Phase in den langsameren Kernen und zu einer Verlängerung der G_2-Phase in den schnelleren Kernen führt (Hinweise hierfür konnten in dieser Arbeit durch die Lebendbeobachtungen nicht erbracht werden) und
2) eine weitere Komponente, welche während der Mitose den im Prophasegeschehen weiter fortgeschrittenen Zellkern noch so lange stoppen kann, bis auch der langsamere Kern den zeitlichen Vorsprung des anderen aufgeholt hat und beide Kerne synchron die restlichen Mitosephasen durchlaufen können.

Sowohl passive Kernbewegungen, deren Ursache in Veränderungen der Zellform mit daraus resultierender Verschiebung der Zellkerne zu sehen ist, als auch aktive, durch direkt am Kern ansetzende Mikrotubuli bedingte Kernbewegungen können dazu führen, daß sich in mehrkernigen Zellen die Kerne einander nähern und eventuell bis zur Berührung aneinanderrücken. Aktives Aufeinanderzuwandern der Zellkerne findet sich in polyploiden mehrkernigen Zellen und regelmäßig in der befruchteten Eizelle, in der die Karyogamie erst durch die aktiven Bewegungen der beiden Vorkerne ermöglicht wird. Obwohl derartige Kernbewegungen seit langem bekannt sind, ist immer noch nicht geklärt, warum sich die Interphasekerne zwar aufeinander zu bewegen können, dann in der Regel aber bis zum Beginn der Zellteilung nicht mehr über eine größere Distanz auseinanderrücken, was in der prämitotischen Zelle als Folge der Zellbewegungen und der Veränderungen der Zellform durchaus denkbar wäre.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, daß sich die Zellkerne in der Regel spätestens bis zum Beginn der Prophase eng aneinandergeschmiegt hatten. Ein in diesem Stadium zwischen den Kernen liegender, schmaler Cytoplasmastreifen ('internukleärer Spalt') war nur in 17.7 % der Kernpaare zu erkennen; in allen übrigen Kernpaaren war lichtmikroskopisch ein internukleärer Spalt nicht mehr sichtbar. Die Kerne schienen sich in den meisten Fällen sogar so fest aufeinandergepreßt zu haben, daß sie die Form von Halbkugeln mit einer zwischen den Kugelhälften verlaufenden geraden, manchmal S-förmig geschwungenen Doppelkernmembran annehmen mußten.

Die Lebendbeobachtungen ergaben, daß der internukleäre Spalt keinen wesentlichen Einfluß auf die Asynchronie bzw. Synchronie des Prophasebeginns in beiden Zellkernen zweikerniger Zellen ausübt: 87.1 % der Kernpaare mit Spalt zeigten einen synchronen und 12.9 % einen asynchronen Prophasebeginn; von den Kernpaaren ohne Spalt begannen 90.3 % die Prophase synchron und 9.7 % asynchron.

Die somit sehr gering einzustufende Bedeutung eines schmalen internukleären Spalts für die Entstehung asynchroner Prophase-

kernpaare wird noch dadurch unterstrichen, daß in vielen mehrkernigen Tier- und Pflanzenzellen ein synchroner Prophasebeginn durchaus in relativ weit voneinander entfernten Kernen beobachtet werden kann - obwohl gerade in vielkernigen Syncytien mit großen Kernabständen auch Mitosewellen, d.h. aufeinanderfolgende, asynchrone Prophasen bekannt sind (MAHLBERG und SABHARWAL, 1967), die allgemein als Indiz für ein von Kern zu Kern diffundierendes Teilungsprotein gewertet werden. In letzterem Fall könnten Breite des internukleären Spalts und Synchroniergrad sehr gut in einem umgekehrt proportionalen Verhältnis zueinander stehen.
Auch die Prophasedauer zweikerniger Zellen wurde durch den internukleären Spalt nicht wesentlich beeinflußt, sofern sich beide Zellkerne spätestens bis zum Ende der Prophase eng aneinandergeschmiegt hatten, was regelmäßig zum Verschwinden des internukleären Spalts führte.
Die Mitosedauer war in asynchronen Kernpaaren mit Spalt sogar eher etwas kürzer (104 $\pm$ 11 min) als in asynchronen Paaren ohne Spalt (119 $\pm$ 32.5 min). Dies gilt jedoch nur für diejenigen Kernpaare, in denen der internukleäre Spalt ausschließlich zu Beginn der Prophase vorhanden war; blieb der internukleäre Spalt jedoch längere Zeit (noch während der Mitose) bestehen, so wurde die Prophasedauer deutlich verlängert (vgl. Tab.7).
Große Bedeutung scheint dem internukleären Spalt dagegen für die Beeinflussung des Mitoseablaufs, d.h. insbesondere für den Übergang von der Prophase zur Metaphase zuzukommen. In den beobachteten zweikernigen Zellen wurde das Mitosegeschehen jeweils dann unterbrochen, sobald der enge prophasische Kern-Kern-Kontakt aufgehoben bzw. noch gar nicht hergestellt worden war. Selbst ein sehr schmaler, lichtmikroskopisch gerade noch zu erkennender internukleärer Spalt schloß regelmäßig die Auflösung der Kernmembranen und damit den Beginn der Metaphase aus.
Diese Beobachtungen deuten daraufhin, daß in mehrkernigen Zellen der direkte Kernkontakt Voraussetzung für die (synchrone) Auflösung der Kernmembranen ist. Dies war besonders deutlich in einem Prophasekernpaar (vgl. Kap. III.9.) zu beobachten, dessen Kerne trotz gut erkennbarer Chromosomenkondensierung mehrere Stunden

lang im Prophasestadium verharrten, bis der internukleäre Spalt schließlich verschwand. Erst jetzt konnte der Mitoseablauf fortgesetzt werden. Selbst wenn es sich bei einigen dieser Beobachtunge um licht- und temperaturbedingte Artefakte gehandelt haben sollte, so scheint die Bedeutung des Kern-Kern-Kontaktes für die Auflösung der Kernmembranen am Ende der Prophase doch offensichtlich zu sein.
Asynchronie der DNS-Synthese und der Mitose vielkerniger Zellen kann nach JOHNSON und RAO (1971) auf unterschiedliche Faktoren zurückzuführen sein: 1) Unterschiedliche Größe, Art und Herkunft der Zellkerne; 2) nicht-optimale Ernährungsbedingungen; 3) ungleichmäßige Verteilung der Induktor- und der Nicht-Induktor-Metabolite. Die an mehrkernigen Lungenfibroblasten der Erdmaus durchgeführten Lebendbeobachtungen lassen es zumindest möglich erscheinen, daß auch dem direkten Kern-Kern-Kontakt im mitotischen Synchronisierungsprozeß einer mehrkernigen Zelle eine Bedeutung zukommt.

IV.2. Polyploidisierung und Reduktion

Durch die Fusion von zwei haploiden Gameten, einer weiblichen Oocyte mit einem männlichen Spermatozoon, entsteht eine diploide Zygote, aus der sich in der Regel ein diploider Organismus entwickelt (Abb. 62: '1'). In der meiotischen Reduktionsteilung wird in zwei aufeinanderfolgenden Teilungsschritten die Chromosomenzahl der diploiden Keimzellen auf die Hälfte reduziert, so daß aus einer diploiden Zelle wiederum haploide Gameten gebildet werden. Dieser über haploide Gameten, diploide Körperzellen und die meiotische Reduktion wieder zu haploiden Gameten führende Zyklus ist im Tier- und Pflanzenreich universell verbreitet und wird nur in Ausnahmefällen durchbrochen.
Rein haploide Organismen, die bei Pflanzen häufiger als bei Tieren gefunden werden, stellen eine Abnormität dar, deren wesentliches Kennzeichen eine hochgradige Sterilität ist (Übersicht bei SWANSON 1960). Im Tierreich wurde (zum Teil künstlich erzeugte) Haploidie bei zwei Arten vom Molch beschrieben (IVANOV, 1938; FANKHAUSER, 1937; FANKHAUSER und GRIFFITHS, 1939); diese Tiere waren klein,

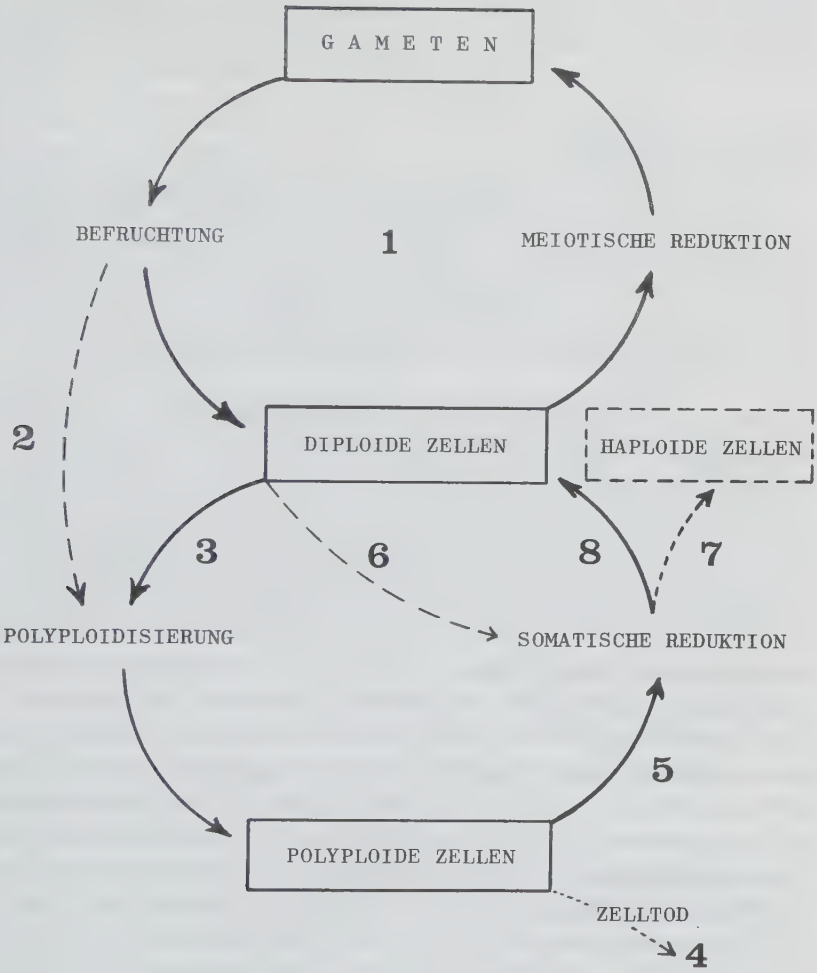


Abbildung 62: Polyploidisierung und Reduktion: Zyklische Darstellung der Zusammenhänge von Polyploidisierung, somatischer Reduktion, Vorzugsploidie der Körperzellen (2n), meiotischer Reduktion und Befruchtung.
Zahlen: siehe Text

morphologisch und physiologisch abnorm und starben vor der Geschlechtsreife. In Säugern läßt sich Haploidie künstlich erzeugen (GRAHAM, 1974): So konnte KAUFMAN (1978) in parthenogenetischen Mäuseembryonen einzig haploide Metaphasen finden; zum Teil fanden sich auch Embryonen mit teils haploiden, teils diploiden Metaphasen.
Auch rein polyploide Organismen fehlen im Tierreich vollständig; im Pflanzenreich allerdings ist die Polyploidie weit verbreitet (Übersicht bei GEITLER, 1953; SWANSON, 1960). Die im Tierreich außerordentlich seltene Keimbahnpolyploidie ist in der Regel mit parthenogenetischer Fortpflanzung verbunden, wogegen sie bei Organismen mit sexueller Fortpflanzung mit großer Wahrscheinlichkeit fehlt.
Es ist jedoch möglich, daß durch abnorme Fertilisation (z.B. durch Fusion einer Oocyte mit zwei und mehr Spermien) polyploide Zygoten entstehen (Abb. 62: '2'), die aber in der Regel keine reguläre Entwicklung eines polyploiden Organismus erlauben (Abb. 62: '4'). Vielmehr können polyploide Zygoten mehrpolige Zellteilungen durchlaufen, aus denen in den meisten Fällen nicht lebensfähige Tochterzellen hervorgehen (Übersicht bei PERA, 1970).

Die Entstehung lebensfähiger triploider oder höher polyploider Kerne wurde bei Selachiern (RÜCKERT, 1892) und bei Urodelen (BATAILLON und TCHU-SU, 1929) vermutet. GOLD und AVISE (1976) beschrieben Triploidie im kalifornischen Rotauge (Hesperoleucus symmetricus), die sie auf die Fusion eines haploiden Spermiums mit einem nicht reduzierten (diploiden) Ei zurückführten. Lebensfähige triploide Organismen wurden auch bei Salamandern und Fröschen (MASLIN, 1971; Übersicht bei CUELLAR und UYENO, 1972), bei Vögeln (OHNO et al., 1963; SARVELLA, 1970) und bei Fischen (SCHULTZ, 1971; CUELLAR und UYENO, 1972) gefunden.
Das Auftreten verschiedener Ploidiestufen nebeneinander (z.B. haploid-diploid-triploid) kann einen ganzen Organismus betreffen. Derartige Mosaike wurden neben verschiedenen Tierarten (SUOMALEINEN, 1940, 1947; PARMENTER, 1933) auch beim Menschen (EDWARDS et al., 1967) gefunden. Ihre Entstehung wird mit abnormer Fertilisation (Abb. 62: '2'), Kernfusion von Blastomeren ('3') und mehrpoligen Mitosen erklärt. Diploid-polyploide Mosaik-

formen sind jedoch ebenso wie rein polyploide Organismen selten, zumal ein früher Tod ('4') für diese Mosaike charakteristisch zu sein scheint (CARR, 1970; SCHINDLER und MIKAMO, 1970; BLOOM, 1972).

Im Gegensatz zur reinen Polyploidie eines ganzen Organismus ist die somatische Polyploidie, das Vorkommen polyploider Zellen in diploiden Geweben, im Tierreich weit verbreitet. Polyploide Zellen finden sich in vielen Geweben (Übergangsepithel des Urogenitaltraktes, Osteoklasten, Megakaryocyten, Herzmuskelzellen, Leber- und Pankreasepithelien, Schweißdrüsenzellen u.v.a.m.) aber auch in bösartigen oder entzündeten Zellverbänden. In mehrere Wochen alten Gewebekulturen unterschiedlicher Tierspecies sind polyploide Zellen besonders häufig anzutreffen.

Die Mechanismen der Polyploidisierung in vivo und in vitro (Abb. 62: '3') sind vielfältig (Übersicht bei PERA, 1970): Neben der abnormen Fertilisation und der Kernfusion von Blastomeren in den ersten Furchungsstadien können polyploide Zellen durch Endomitose, Endoreduplikation, C-Mitose, Zellfusion, Zellkernfusion, amitotische Teilung der Zellkerne ohne nachfolgende Cytokinese, mitotische Kernteilung ohne Zellteilung und durch multipolare Mitosen entstehen. Polyploide Zellen lassen sich auch künstlich durch Zellfusion (OKADA, 1962; HARRIS und WATKINS, 1965; HARRIS et al., 1966) bzw. unterdrückte Cytokinese (GIMENEZ-MARTIN et al., 1965; CARTER, 1967; GIMENEZ-MARTIN, 1968; RIDLER und SMITH, 1968; DICKERMAN und GOLDMAN, 1973) erzeugen.

In dieser Arbeit konnten multipolare Mitosen, Zellfusionen, Zellkernfusionen ('Fusion von Telophaseteilen'), prometaphasische Restitution ("C-Mitose") und ausbleibende Cytokinese nach bi- und multipolaren Zellteilungen als Entstehungsmechanismen polyploider Zellen nachgewiesen werden.

Durch höhere Ploidiestufen geht die Fähigkeit zu mitotischer Zellteilung in vivo verloren: Herzmuskelzellen beispielsweise können durch Endoreduplikation ihren Ploidiegrad zwar erhöhen, eine Mitose der polyploiden Zellen bleibt aber aus. In polyploiden Zellen von Insektenlarven jedoch kann die mitotische Teilungsfähigkeit in vivo durch somatische Reduktionsteilungen

im engeren Sinn wiedererlangt werden. Aus hoch-polyploiden Zellen entstehen hier durch zahlreiche aufeinanderfolgende Zellteilungen ohne dazwischenliegende Chromosomenverdoppelungen schließlich lebens- und teilungsfähige diploide Zellen (Abb. 62: '5' und '8').

Die in dieser Arbeit untersuchte somatische Reduktionsteilung durch multipolare Mitosen in vitro unterscheidet sich von der in vivo erfolgenden eigentlichen somatischen Reduktion (BERGER, 1938) in wesentlichen Punkten (siehe Kap. IV.3.). Trotz dieser Unterschiede ist beiden Arten somatischer Reduktionsteilungen die Fähigkeit zur Reduktion des Ploidiegrades polyploider Zellen bis zur diploiden Stufe gemeinsam; dabei wird das Chromosomenmaterial nach vollständigen Sätzen geordnet auf die Tochterkerne verteilt.

Wie die in dieser Arbeit vorgelegten Untersuchungen zeigen, kann auch das Chromosomenmaterial (zweikerniger) diploider Zellen durch multipolare Mitosen in vitro bis auf die haploide Stufe reduziert werden (Abb. 62: '6' und '7'). Jedoch stellte sich heraus, daß haploide Kerne scheinbar nur dann teilungsfähig sind, wenn sie zusammen mit anderen Kernen in einem gemeinsamen Cytoplasma liegen. Mitosen einkerniger haploider Zellen wurden nicht beobachtet.

IV.3. Somatische Reduktionsteilungen

In teilungsfähigen somatischen Zellen kann die zygotische Chromosomenzahl nur dann aufrechterhalten werden, wenn die Zellteilung mit der Reproduktion der Chromosomen synchronisiert ist (...S-Phase...Mitose...S-Phase...Mitose...) oder/und für jedes der beiden Chromatiden eines Chromosoms nur ein einziger Spindelpol in der mitotischen Teilungsfigur vorhanden ist. Geschieht die Reduktion des Chromosomenmaterials durch aufeinanderfolgende Zellteilungen ohne dazwischenliegende Chromosomenverdoppelung, so spricht man von 'Somatischer Reduktion im engeren Sinn' ("somatic reduction", BERGER, 1938).
Der Reduktionsmechanismus durch mehrere gleichzeitig erfolgende Teilungen mittels multipolarer Mitose wird im folgenden als 'Somatische Reduktion' bezeichnet (OHNO, 1966). Die 'Somatische

Reduktion' basiert auf dem Prinzip der Multipolarität: Da der Chromosomenbestand in der S-Phase nur verdoppelt wurde, in der nachfolgenden Mitose jedoch mehr als zwei Spindelpole vorliegen, wird die Dualität der mitotischen Kernteilung (2 Chromatiden / 2 Spindelpole) aufgehoben, und es entstehen Tochterkerne, die nicht alle dieselbe Ploidie wie ihre Mutterzelle haben können: Wenigstens einige Tochterkerne weisen einen g e r i n g e r e n Ploidiegrad auf.
Auch die Genomsonderung (GLÄSS, 1956) kann zu Tochterkernen mit reduzierter Chromosomenzahl führen; auf ihre genauere Erörterung wird hier jedoch verzichtet (Übersicht bei PERA, 1970).

IV.3 a) Somatische Reduktion im engeren Sinn

Die somatische Reduktion stellt eine "Variante des polyploiden mitotischen Zyklus" (NAGL, 1976) dar: Aufeinanderfolgende Mitosen führen bei ausbleibender Chromosomenverdoppelung zur Reduktion des Chromosomenmaterials polyploider Zellen unter Umständen bis zur Diploidie; die Entstehung haploider Zellen durch somatische Reduktion im engeren Sinn ist jedoch nicht bekannt.
Zum ersten Male wurden somatische Reduktionsteilungen von HUGHES-SCHRADER (1925, 1927) bei der australischen Wollschildlaus (Icerya purchasi) beschrieben. Später fanden BERGER (1938, 1941), GRELL (1946) und RISLER (1959, 1961) somatische Reduktionsteilungen während der Metamorphose von Culex pipiens und Aedes aegypti.
Aber auch in Pflanzen sind somatische Reduktionsteilungen ("meiotic-like reduction division", HUSKINS, 1948b) beschrieben worden (HUSKINS, 1948 a,b; HUSKINS und STEINITZ, 1948; RASCH et al., 1959; MARIYAKHINA und BUTENKO, 1974), jedoch laufen sie hier sporadisch ab. Eine Beziehung zu einem regulären Entwicklungsprozeß oder zu einer strukturellen Differenzierung ist bei somatischen Reduktionsteilungen in pflanzlichen Geweben zudem nicht zu erkennen (GOTTSCHALK, 1958).
Genau analysiert wurden somatische Reduktionsteilungen im engeren Sinn im Darmepithel von Culex pipiens (BERGER, 1938, 1941), wo sie regelmäßig beobachtet werden können. Hier wachsen die Zell-

kerne durch Endomitose im Sinne GEITLERs (1938) bis zu hohen Ploidiestufen (32n - 64n) heran, ohne sich zwischenzeitlich zu teilen. Nach Vollendung des Wachstums, kurz vor der Verpuppung, erfolgen in kurzen Zeitabständen mehrere Zellteilungen, die die Chromosomenzahl bis herab zur Diploidie reduzieren können. BERGER (1938) meint, daß auf diese Weise in bestimmten Geweben eine sehr schnelle Metamorphose ohne die Verzögerung durch S-Phasen ermöglicht wird.
In den somatischen Reduktionsteilungen von Culex sind die Chromosomen zu Beginn der Prophase in Form von drei paarigen homologen "Chromosomenaggregaten" (TSCHERMAK-WOESS, 1971) angeordnet (die Grundzahl ist bei Culex n = 3). Jeder dieser paarig vorhandenen "multiplen Komplexe", die sich aus den Homologen und ihren endomitotischen Abkömmlingen zusammensetzen, zerfällt in der späten Prophase je nach Kernploidie (Ploidiestufen bis 32n) in bis zu 32 Stränge (= Chromosomen), die sich etwas später, durch somatische Paarung mit ihren homologen Strängen vereinigt, paarweise nebeneinander in einer gemeinsamen Metaphasenplatte anordnen. In der nachfolgenden Anaphase werden die homologen Chromosomen auf die Pole der bipolaren Spindelfigur verteilt, ohne sich dabei noch einmal längszuteilen.
Durch diesen Mechanismus der Paarung homologer Chromosomen und der folgenden anaphasischen Separation wird die Chromosomenzahl mit jeder Zellteilung halbiert, so daß in den Zellen des Imaginalepithels von Culex die Ploidie schließlich von 32n auf 8n/4n reduziert werden kann.
Für diese Form der somatischen Reduktion im engeren Sinn konnten in den untersuchten Zellen der Erdmaus keine Anhaltspunkte gefunden werden.

IV.3 b) Somatische Reduktion durch multipolare Mitosen

Eine somatische Reduktion polyploider und diploider Zellen kann auch durch multipolare Spindeln erreicht werden (OHNO, 1966; PERA, 1970; PERA und RAINER, 1973, 1974). Die Reduktionsteilungen erfolgen hier im Gegensatz zur somatischen Reduktion im engeren

Sinn in mehreren simultanen Schritten, indem entweder zwei bipolare Spindelfiguren nebeneinander (Bimitosen und Parallelmitosen) bzw. übereinander ('Etagenmitosen') liegen, oder die Chromosomen aus einer mehrstrahligen Metaphasenplatte auf mehrere Pole dieser Teilungsfigur verteilt werden (Abb. 63 a-e).
Ebenso wie bei der somatischen Reduktion im engeren Sinn werden auch hier die Chromosomen nach ganzen Genomen geordnet auf die Tochterkerne verteilt; jedoch erfolgt in der Anaphase von Reduktionsteilungen mit mehreren Spindelpolen eine Trennung der Chromosomen in ihre Chromatiden (PERA und SCHWARZACHER, 1969; PERA, 1970). Vollständige, aus zwei Chromatiden bestehende Metaphasechromosomen werden nie unsepariert auf die Tochterkerne verteilt (PERA, 1970; PERA und RAINER, 1973).
Parallelmitosen, Etagenmitosen und multipolare Mitosen konnten als Mechanismen der somatischen Reduktion in den beobachteten Zellen der Erdmaus nachgewiesen werden (Abb. 63).
In Zellkulturen vom Rattenkänguruh (Potorus tridactylis) beobachteten BRENNER et al.(1977) somatische Reduktionsteilungen durch Bimitosen, die sich von Parallelmitosen in der Richtung ihrer Spindellängsachsen unterscheiden (vgl. Abb. 63 a/b; siehe auch GIMENEZ-MARTIN, 1966; GIMENEZ-MARTIN et al., 1968; GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 1966, 1971): Die Chromosomen tetraploider Zellen wurden in zwei Gruppen gesondert; anschließend bildete jede Chromosomengruppe einen bipolaren Spindelapparat, aus dem je zwei Tochterkerne hervorgehen konnten ("two-step reduction division"). Abbildung 63b wurde nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme von BRENNER et al.(1977) schematisch vereinfacht gezeichnet; die in der Mitte der Zelle gelegenen zwei Spindelpole sind acentriolär (vgl. Kap. IV. 7 g).
Die von PERA (1975) in Microtus-Zellen und von BRENNER et al. (1977) in Zellen vom Rattenkänguruh beschriebenen, nicht miteinander in Verbindung stehenden Parallel- bzw. Bimitosen (Doppelmitosen) fanden sich jedoch in den beobachteten Zellen nicht; hier waren alle Chromosomen von Parallelmitosen in einer gemeinsamen Metaphasenplatte angeordnet. Ebenso konnte Genomsonderung bzw. Bildung einer eigenen Spindel für jeden der beiden Kerne

von zweikernigen Zellen als Voraussetzung einer Bi- oder Parallelmitose nicht beobachtet werden.

Die in dieser Arbeit untersuchten somatischen Reduktionsteilungen durch multipolare Mitosen unterscheiden sich von der somatischen Reduktion im engeren Sinn in wesentlichen Punkten:

1. Sie reduzieren Kerne mittlerer Ploidiestufen, wogegen die somatische Reduktion im engeren Sinn besonders in Kernen mit hoher Ploidie (bis 64n) zu finden ist.
2. Sie wurden bisher nur in vitro analysiert. Ihr Vorkommen in vivo läßt jedoch auch dort ein Funktionieren des somatischen Reduktionsmechanismus wahrscheinlich erscheinen (STONE et al., 1964; HAINES, 1965; SINHA, 1967; PAWLOWITZKI und CENANI, 1967; OHNO, 1966).
3. Sie benötigen Mitosefiguren mit mehr als zwei Spindelpolen.
4. Die Reduktion erfolgt in mehreren simultanen Schritten durch mitotische Teilung einer mehrpoligen Figur bzw. von zwei benachbarten bipolaren Figuren.
5. Sie reduzieren die Chromosomenzahl dadurch, daß Schwesterchromatiden (und nicht vollständige Chromosomen) auf die Tochterkerne einer mehrpoligen Teilungsfigur verteilt werden.
6. Sie können zur Bildung genetisch ungleichwertiger Tochterkerne führen (Somatische Segregation) und werden deshalb auch als eine Art "Meiose in vitro" (RIZZONI et al., 1974) bezeichnet.
7. Durch die somatische Reduktion mittels multipolarer Mitosen kann auch die Ploidie (zweikerniger) diploider Zellen bis zur haploiden Stufe reduziert werden, wogegen die somatische Reduktion im engeren Sinn den diploiden Ploidiegrad nicht unterschreitet. Die durch somatische Reduktion in vitro entstandenen haploiden Zellen sind zwar lebensfähig, wahrscheinlich aber nicht teilungsfähig.

Gemeinsam ist beiden Arten der somatischen Reduktion, daß die aus somatischen Reduktionsteilungen hervorgegangenen Tochterzellen ihrerseits in vielen Fällen wiederum Reduktionsmitosen bilden ("Vererbbarkeit der Multipolarität von der Mutterzelle auf die Tochterzellen" - RIZZONI et al., 1974; vgl. auch Kap. IV.7.), so

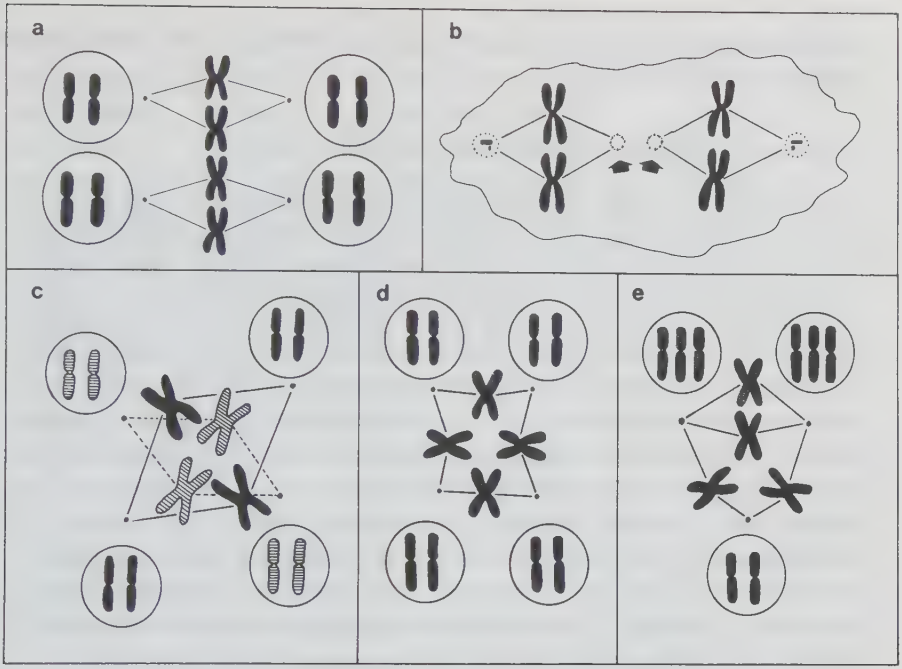


Abbildung 63: Somatische Reduktionsteilungen tetraploider Zellen durch mehrpolige Spindelfiguren (die Chromosomen repräsentieren vollständige haploide Sätze bzw. homologe Chromosomen der vier Chromosomensätze)

a) Parallelmitose mit vier Spindelpolen: Entstehung von vier diploiden Tochterkernen

b) Bimitose nach vorhergehender Genomsonderung ("two-step reduction division"): Aus der bimitotischen Reduktionsteilung können vier diploide Tochterkerne hervorgehen. Beachte centrioläre und acentrioläre (Pfeile) Spindelpole. Schematisiert gezeichnet nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme von BRENNER et al.(1977).

c) Etagenmitose: Zwei übereinanderliegende bipolare Spindelfiguren führen zur Entstehung von vier diploiden Tochterkernen.

d) Vierstrahlige vierpolige Mitose: Entstehung von vier diploiden Tochterkernen.

e) Dreistrahlige dreipolige Mitose: 3n/2n/3n - Tochterkerne

daß schließlich aus polyploiden Zellen diploide und sogar haploide Zellen entstehen können.

IV.4. Vorkommen multipolarer Mitosen

Bald nach den ersten Beschreibungen bipolarer mitotischer Kernteilungen durch BALBIANI (1876), BÜTSCHLI (1876), VAN BENEDEN (1876), O.HERTWIG (1876, 1877), STRASBURGER (1875, 1880) und FLEMMING (1879, 1880, 1882) wurden Metaphasenfiguren mit mehr als nur zwei Spindelpolen in Tier- und Pflanzenzellen gefunden.

Die ersten multipolaren Mitosen beschrieben MAYZEL (1875) in malignem Tumorgewebe und FOL (1875) in polyspermen Molluskeneiern. STRASBURGER (1880), der als erster multipolare Mitosen bei Pflanzen im 'protoplasmatischen Wandbelege des Embryosackes von Leucoium aestivum' entdeckte, schrieb über seine Beobachtung: "Einige dieser Spindeln zeigten drei Spitzen. Es war überhaupt das erste Mal, daß mir derartige Bildungen begegneten, ich hätte deren Existenz kaum für möglich gehalten" (S.18). Tatsächlich hielt man multipolare Mitosen in pflanzlichem Material lange Zeit für Artefakte (DEVISE, 1922). Multipolare Mitosen wurden jedoch bald in so zahlreichen tierischen und pflanzlichen Geweben beobachtet, daß BOVERI bereits 1888 schreiben konnte: "Mehrpolige Mitosen sind etwas Allbekanntes."
Seitdem wurden mehrpolige Spindelfiguren in einer Vielzahl von Geweben entdeckt und untersucht (Übersicht bei WALTERS, 1960; PERA, 1970): in Pflanzen (STRASBURGER, 1882, 1895; MOTTIER, 1897; DAVIS, 1901; OSTERHOUT, 1902; HEITZ, 1926; BEADLE und McCLINTOCK, 1928; MORINAGA und FUKUSHIMA, 1934; WOLL, 1953; WALTERS, 1958, 1960; BAJER und MOLE-BAJER, 1969), in polyspermen Eiern (FOL, 1875; KOSTANECKI, 1904, 1908, 1911; BALTZER, 1908), in Megakaryocyten des Knochenmarks (ARNOLD, 1883; BESSIS et al., 1958) und in vielen anderen Geweben (MACMAHON, 1933; FANKHAUSER, 1934; KNUDSEN, 1958). Besonders zahlreich ist ihr Vorkommen in malignem Tumorgewebe (BOVERI, 1914; ROWEN und MALLORY, 1925; WARREN, 1933) und in polyploiden mehrkernigen Zellen (WILSON

und LEDUC, 1949; BESSIS et al., 1958; SISKEN und KINOSITA, 1961; BARASA et al., 1967; OFTEBRO und WOLF, 1967; PERA, 1970; PALITTI und RIZZONI, 1972; PERA und RAINER, 1973).
Besonders in Gewebekulturen von Nagern ist der Anteil multipolarer Mitosen an der Gesamtheit aller Mitosen regelmäßig erhöht (SCHMID, 1966; PERA und SCHWARZACHER, 1969; PERA, 1970; PERA und RAINER, 1973). PERA (1970) stellte fest, daß in Gewebekulturen der Erdmaus (Microtus agrestis) 29.0 % aller tetraploiden Meta- und Anaphasefiguren eine multipolare Spindelanordnung aufwiesen. Die in dieser Arbeit mitgeteilten Befunde unterstreichen ebenfalls den erhöhten Prozentsatz mehrpoliger Spindelfiguren in Nagerzellkulturen (Kap. III.19.).
Das häufige Auftreten multipolarer Mitosen in Gewebekulturen von Nagern wird auf den in diesen Kulturen gewöhnlich erhöhten Anteil polyploider Zellen zurückgeführt (PERA, 1970, 1975). Andererseits wird es aber auch als vom Ploidiegrad unabhängiges Charakteristikum der Nagerzelle gedeutet, das ebenso wie die den Nagern eigene Veranlagung zur Zelltransformation unter in vitro-Bedingungen eher eine Spezieseigenschaft als vielmehr eine Folge der Ploidie darstellt.

IV.5. Künstliche Erzeugung multipolarer Mitosen

Multipolare Spindelfiguren sowohl in der Meiose als auch in der Mitose treten spontan in einer Vielzahl unterschiedlicher Gewebe und Zellen auf; sie lassen sich jedoch auch künstlich durch experimentelle Manipulationen erzeugen.
Schon BALTZER (1909) erkannte, daß man mehrpolige Mitosen dadurch erzielt, indem "man Eier mit viel Sperma befruchtet". Dieser Zusammenhang zwischen Multipolarität und Polyploidie (d.h. einer erhöhten Anzahl von Centriolen; vgl. auch Kap. IV.7.) kann zur Erzeugung eines erhöhten Prozentsatzes multipolarer Mitosen herangezogen werden. Über den Umweg einer künstlichen Polyploidisierung durch Zellfusion oder unterdrückte Cytokinese (GIMENEZ-MARTIN et al., 1964; GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 1964; GONZALEZ, 1967; DICKERMANN und GOLDMAN, 1973) wird die Zahl potentieller Spindelpole einer Zelle erhöht; die nachfolgende Mitose

ist in diesen mehrkernigen Zellen sehr häufig mehrpolig. Derselbe Effekt kann auch durch die experimentelle Induktion einer großen Zahl von Centriolen erzielt werden (WILSON, 1901; HEIDEMANN und KIRSCHNER, 1975; MALLER et al., 1976). Multipolare Mitosen finden sich häufig nach Einwirkung carcinogener (STICH, 1960; MAINI und STICH, 1961; STILLER et al., 1972) aber auch nicht-carcinogener Substanzen (LUDFORD, 1953).
Für die künstliche Erzeugung multipolarer Mitosen lassen sich neben Kälte (EHRENBERG und ÖSTERGREN, 1942) und Druck (PEASE, 1946) auch Röntgenstrahlen verwenden (HENSHAW, 1940; LEVIS und MARIN, 1963; FETNER und PORTER, 1965), deren spezifische Wirkung zum Teil durch eine direkte Schädigung der Centriolen erklärt wird (RONDANELLI et al., 1967; RUSTAD, 1959).
In der Mehrzahl der Fälle werden multipolare Mitosen jedoch nicht durch physikalische sondern vielmehr durch chemische Noxen induziert. Eine Vielzahl unterschiedlichster chemischer Substanzen bietet sich zu diesem Zweck an: Chinin oder Chloral (HERTWIG und HERTWIG, 1887), Chloralhydrat (SAKAMURA, 1920; MOLE-BAJER, 1967), Äther (WILSON, 1901; YAMAHA, 1927; SWANN, 1954), Urethan (SCHNEL, 1961), Mercaptoäthanol (MAZIA et al., 1960), NH_3 und D_2O (MAZIA, 1977), Cyanid (IMMERS und RUNNSTRÖM, 1959), Vinblastin (MARTIN und SPRAGUE, 1970), Methanol (ÖSTERGREN und BAJER, 1960) und viele andere.

IV.6. Bildung mehrpoliger Spindelfiguren in der Lebendbeobachtung

Die in der Lebendbeobachtung gefundene Vielzahl unterschiedlicher Mitoseabläufe unterstreicht die Komplexität mitotischer Vorgänge bei der Entstehung mehrpoliger Spindelfiguren (vgl. Kap. III.13.). In Abbildung 64 sind die prägnantesten Entstehungsvorgänge multipolarer Mitosen zweikerniger (meist polyploider) Zellen schematisch zusammengefaßt (Details in Abb. 14 - 36). Die Lebendbeobachtung ergab, daß die Entstehung multipolarer Mitosen durch unterschiedliche Bewegungsmuster der Chromosomen charakterisiert sein kann. Mehrere Varianten konnten unterschieden werden:

1) "Direkte" Bildung: Aus der gemeinsamen Prometaphasengruppierung konfluieren die Chromosomen gleichzeitig zu einer endgültigen

Metaphasenfigur. Prometaphasische Umverteilungen der Chromosomen erfolgen nicht.
2) "Sukzessive" Bildung: Die einzelnen Strahlen der mehrstrahligen Metaphasenfiguren werden nacheinander gebildet. Wesentliche Veränderungen der Spindelfigur erfolgen dann nicht mehr.
3) Bildung in mehreren Schritten: Aus einer vorläufigen (Pro-) Metaphasenfigur gehen endgültige Spindelfiguren mit mehr (selten) bzw. mit weniger (häufig) Strahlen als in der Prometaphase erkennbar waren hervor.
Die dabei zu beobachtenden Chromosomenbewegungen lassen sich in zwei Kategorien unterteilen:

a) Vollständige Strahlen der Prometaphasenfigur werden bewegt; so entsteht beispielsweise aus einer einstrahligen Metaphase durch Einknicken in der Mitte eine zweistrahlige Spindelfigur (vgl. Abb.25).
b) Die Veränderungen der Metaphasenfigur beruhen auf Bewegungen zahlreicher Einzel-Chromosomen. Hierdurch entsteht der Eindruck von der allmählichen "Resorption" eines Strahls bzw. mehrerer Strahlen durch die endgültige Spindelfigur (vgl. Abb.29, 31-33).
Dieser Vorgang ("Einordnen der Chromosomen") kann gut vom vorigen ("Pendeln der Strahlen") unterschieden werden.

4) Bildung über ein Hohlspindel-Zwischenstadium: Hier konfluieren die Prometaphasechromosomen stets zu einer symmetrischen Kreisfigur, aus der dann direkt oder indirekt mehrpolige Spindelfiguren hervorgehen.

Hohlspindeln entstehen wahrscheinlich dadurch, daß sich die an der Spindelbildung beteiligten Centriolen in der frühen Prometaphase noch nicht bzw. nur über eine geringe Distanz voneinander getrennt haben. RATTNER und BERNS (1976) konnten durch Lebendbeobachtungen mitotischer Rattenkänguruhzellen die ausbleibende Trennung der Centriolengruppen ("delayed duplex separation") als Ursache der Hohlspindelentstehung nachweisen.
Das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Verhalten der Hohlspindeln zweikerniger und auch einkerniger Zellen stimmt - obwohl Centriolen nicht sichtbar waren - gut mit den von RATTNER

Abbildung 64: Schematische Zusammenfassung der in der Lebendbeobachtung verfolgten Entstehungsvorgänge bipolarer und multipolarer Spindelfiguren zweikerniger Zellen

Rechte Spalte: Endgültige Metaphasenfiguren (1 - 9)

Obere Reihe: Intermediärfiguren (a - g): Chromosomengruppierungen, aus denen die endgültigen Metaphasenfiguren schließlich hervorgingen.

Beispiel I: Die zweikernige Zelle bildete in der Prometaphase eine Hohlspindelfigur (a), aus der entweder direkt die endgültigen Metaphasenfiguren 2, 3, 4 und 6 oder indirekt über Bildung einer vierstrahligen (c) und/oder schließlich zweistrahligen (g) Figur die endgültigen Metaphasenfiguren 4 und 7 (nach Figur c) bzw. 2 (nach Figur g) hervorgingen.

Beispiel II: Die Entstehung einer einstrahligen vierpoligen Metaphasenfigur (4) konnte sowohl ohne Zwischenschaltung einer Intermediärfigur ("DIREKT") als auch nach vorhergehender Bildung einer Hohlspindel (a) bzw. einer vierstrahligen Figur (c) beobachtet werden.

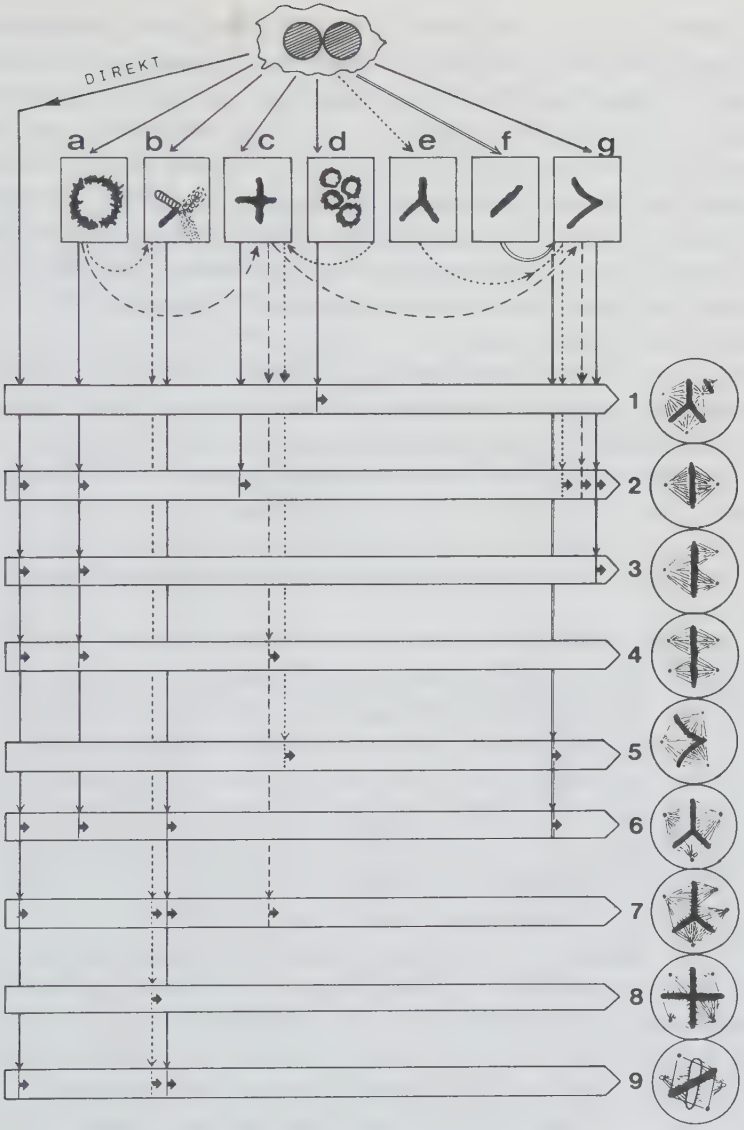


Abbildung 64: Erläuterungen: siehe nebenstehende Seite

und BERNS (1976) beschriebenen Beobachtungen des Centriolen-Chromosomen-Verhaltens überein: So zeigte die in mehreren optischen Ebenen durchgeführte Lebendbeobachtung von Hohlspindelfiguren, daß es sich beim Übergang von der Hohlspindel zur zwei- und mehrstrahligen Metaphase nicht (wie lange vermutet wurde) um das Kippen einer senkrecht zur Beobachtungsebene stehenden bipolaren Spindel handelt, sondern daß hier ein Konfluieren der Chromosomen vorliegt, das als direkte Folge der aus dem Kreismittelpunkt nach draußen gerichteten Centriolenbewegungen interpretiert werden kann.
Ein ähnliches Centriolenverhalten findet sich auch in den Zellen, die in der frühen Prometaphase mehrere Aster (kleine, monopolare Spindeln, d.h. hier Hohlspindeln) erkennen lassen (vgl. Abb.20c/d). Auch hier konfluieren die Chromosomen später infolge der Centriolenbewegungen zu mehrstrahligen Spindelfiguren. Abbildung 20c läßt u.a. erkennen, daß kleine Hohlspindeln (Aster) nicht nur kreisförmig sondern auch "fächerförmig" (RATTNER und BERNS, 1976) sein können.
Als direkte Hinweise auf ein Wandern der Centriolen werden auch die prometaphasischen Umbauvorgänge gewertet, die wahrscheinlich nur dadurch zustande kommen, daß die wandernden Spindelpole "ihre" Chromosomen mitziehen und dadurch kontinuierlich die Konfiguration der Prometaphasefigur verändern. Licht- und elektronenmikroskopische Analysen multipolarer Mitosen (HENEEN, 1970) sowie Lebendbeobachtungen des Centriolenverhaltens während der frühen Mitosestadien (RATTNER und BERNS, 1976) unterstützen diese Anschauung (vgl. auch ROOS, 1973 a und b, 1976).
Es bleibt jedoch noch zu klären, warum prometaphasische Umbauvorgänge in der Regel die Strahlenzahl der Spindelfiguren verringern und nur in wenigen Fällen zu einer Erhöhung der Strahlenzahl führen (vgl. Kap. III.13 e). Möglich ist, daß auch dies Folge der noch nicht abgeschlossenen Centriolenwanderung ist: Zwar kann die Zahl der Strahlen durch Zusammenrücken der Pole und 'Aufklappen' drei- und zweistrahliger Prometaphasefiguren verringert werden, aber neue Strahlen können durch alleinige Centriolenbewegungen wahrscheinlich nicht gebildet werden. (Vgl. dazu Abb.23-25 / 26-28: Bei den in Abb.23-25 dargestellten

Chromosomenbewegungen handelt es sich nicht um eine wirkliche Neubildung von Strahlen sondern nur um ein Einknicken der Figur in der Mitte, das möglicherweise auf Zugkräfte zurückzuführen ist. Abb.26-28 stellen den entgegengesetzten Vorgang, das Aufklappen einer V-förmigen Figur, dar.)
Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von HENEEN (1975) zeigen, daß bestimmte Chromosomen mehrpoliger Spindelfiguren mikrotubuläre Pol-Kinetochor-Verbindungen mit mehr als nur zwei Spindelpolen ausbilden können (vgl. auch Kap. III.13 c). Dies führt möglicherweise dazu, daß bis zur endgültigen unipolaren Chromatidorientierung heftige Chromosomenbewegungen aufgrund unterschiedlicher Kraftvektoren erfolgen. Es erscheint jedoch nicht wahrscheinlich, daß diese Vorgänge allein für die beobachteten Chromosomenumverteilungen während der Prometaphase verantwortlich gemacht werden können.

IV.7. Entstehung multipolarer Mitosen

Die Beantwortung der Frage nach den Voraussetzungen und zellulären Ereignissen, die zur Bildung eines mehrpoligen "mitotischen Apparates" (MAZIA und DAN, 1952) führen, setzt die genaue Kenntnis des regulären Mitosegeschehens voraus. Tatsächlich aber ist unser Wissen über die Mitose noch lückenhaft und Gegenstand teils großer Meinungsverschiedenheiten und Spekulationen (Übersicht bei MAZIA, 1961; LUYKX, 1970; LITTLE et al. eds., 1977). Die Erörterung der denkbaren Entstehungsmechanismen multipolarer Mitosen muß sich deshalb auf diejenigen Modelle und Arbeitshypothesen stützen, die gegenwärtig zur Erklärung mitotischer Vorgänge der Spindelbildung herangezogen werden.
Aufgrund ihres Ploidiegrades, der großen Centriolenzahl und des mitotischen Verhaltens der Tochter- und Enkelzellen sind multipolare Mitosen ihrerseits wiederum besonders gut geeignet, genauere Einblicke in den Entstehungsmechanismus des mitotischen Apparates zu geben und bestehende Hypothesen zu ergänzen bzw. zu verändern.
Von wesentlicher Bedeutung für die mitotische Kernteilung sind Zellorganellenoder -systeme, die den Aufbau des Spindelapparates

einleiten und kontrollieren. Diese "Mikrotubuli-organisierenden Zentren" (MTOC) sind durch ihre Fähigkeit zur Bildung, Orientierung und Verankerung von mikrotubulären Spindelfasern charakterisiert (PORTER, 1966). In tierischen Zellen konnten Centriolen und Kinetochoren als MTOCs nachgewiesen werden (PEASE, 1946; INOUE, 1964; INOUE und SATO, 1967; McGILL und BRINKLEY, 1975; TELZER et al., 1975; WEISENBERG und ROSENFELD, 1975; GOULD und BORISY, 1977; HEIDEMANN et al., 1977; HEIDEMANN und KIRSCHNER, 1975; TELZER und ROSENBAUM, 1979). Die MTOCs gelten allgemein als die letztlich für die Spindelbildung entscheidenden Strukturen, obwohl die etwaige Existenz noch unbekannter und möglicherweise übergeordneter Spindelorganisatoren nicht ausgeschlossen werden kann.

Die Mehrzahl der elektronenmikroskopischen Untersuchungen von mitotischen Zellen höherer und niederer Tiere wird allgemein so interpretiert, daß vor allem die aus zwei Centriolen und pericentriolärem Material (bzw. Satelliten) bestehenden "Mitosezentren" (MAZIA, 1961 b) als die für Entstehung und Orientierung der Spindel letztlich entscheidenden Zellorganellen angesehen werden (Übersicht bei PICKETT-HEAPS, 1974; LUYKX, 1970; NICKLAS, 1971; BAJER und MOLE-BAJER, 1972; KUBAI, 1975; FUGE, 1974 b). Dieses seit den ersten genauen Analysen mitotischer Kernteilungen (VAN BENEDEN, 1883; VAN BENEDEN und NEYT, 1887; BOVERI, 1887, 1888) bestehende Arbeitsmodell ist im großen und ganzen bis heute nicht widerlegt (WILSON, 1925; McINTOSH et al., 1975). Trotzdem ist noch immer nicht geklärt, wie die Mitose-Zentren Mikrotubuli-Monomere zu mikrotubulären Spindelfasern polymerisieren, diese in eine bestimmte Richtung lenken und schließlich noch in der Polregion verankern.

Die hervorragende Bedeutung der Centriolen für Bildung, Orientierung und Funktion der Spindel wird jedoch in den letzten Jahren zunehmend infrage gestellt (FRIEDLÄNDER und WAHRMANN, 1970; ROOS, 1976; Übersicht bei PICKETT-HEAPS, 1969, 1974; LUYKX, 1970) - nicht zuletzt aufgrund von Beobachtungen, die zeigen, daß in bestimmten tierischen Zellen die Bildung bipolarer Spindeln auch ohne direkte Beteiligung der Centriolen als MTOCs möglich ist (DIETZ, 1959, 1963, 1966).

Die Kinetochoren der Chromosomen sind schon lange als Ansatzstellen der Spindelfasern bekannt (METZNER, 1894); ihre Bedeutung für Bildung und Orientierung bipolarer Spindeln wird allerdings erst seit wenigen Jahren diskutiert. Die Fähigkeit der Kinetochoren, als MTOCs Mikrotubuli-Monomere zu mikrotubulären Spindelfasern zu polymerisieren, konnte in Zellen (PEASE, 1946) und in in-vitro-Systemen nachgewiesen werden (McGILL und BRINKLEY, 1975; TELZER et al., 1975; SNYDER und MCINTOSH, 1975). Es bleibt jedoch noch Aufgabe zukünftiger Untersuchungen, zu klären, inwieweit die Kinetochoren allein für die Bildung, Orientierung und Funktion der Spindel verantwortlich sein können.
Die Möglichkeit, in den Kinetochoren ein den Centriolen übergeordnetes Organisationszentrum der Spindelbildung gefunden zu haben, wird von zahlreichen Autoren in Erwägung gezogen. DIETZ (1966), der in lebenden Spermatocyten von Pales ferruginea und Pales crocata die Bildung funktionstüchtiger acentriolärer Spindeln beobachtete, sieht in den Kinetochoren die einzigen für die Spindelbildung verantwortlichen Strukturen. Die Centriolen dagegen sind nach seiner Auffassung weder an der Bildung noch an der Orientierung der bipolaren Spindel ursächlich beteiligt. Eine fehlende räumliche Übereinstimmung zwischen Lage der Centriolen und Orientierung der Spindelachse konnte auch MOLE-BAJER (1975) in mitotischen Zellen vom Molch (Taricha granulosa) nachweisen. FRIEDLÄNDER und WAHRMANN (1970) betrachten das Auftreten von Centriolen an den Spindelpolen sogar als Folge und nicht als Ursache der Spindelbildung. In ihrem Zellteilungsmodell dient die Spindel als zellulärer Mechanismus, welcher Chromosomen (= genetische Substanz) und Centriolen (= motile Substanz) gleichmäßig auf die Tochterspermatocyten verteilt. Auch PICKETT-HEAPS (1969) kommt zu der Schlußfolgerung, daß die Centriolen in Tier- und Pflanzenzellen "Anhängsel und nicht wesentliche Bestandteile der Spindel sind."
Dieses Modell (auch DIETZ, 1959, 1966) verneint die maßgebliche Bedeutung der Centriolen für die Spindelbildung, läßt jedoch offen, ob außer den Kinetochoren noch andere Strukturen oder Systeme den Aufbau mitotischer und meiotischer Spindelfiguren steuern.

DIETZ (1959, 1966) konnte durch Manipulation männlicher Meiosezellen von Pales ferruginea und Pales crocata die Centriolen an ihrer Wanderung zu den gegenüberliegenden Polen des Prophasekerns hindern. In der folgenden Zellteilung entstanden acentrioläre, bipolare Spindeln, aus denen je zwei haploide Spermatocyten II hervorgingen. Im Cytoplasma der einen Spermatocyte lagen vier Centriolen, im Cytoplasma der anderen dagegen keines. Diese acentrioläre Spermatocyte bildete eine acentrioläre bipolare Spindel, wogegen in der centriolenreichen Spermatocyte eine tripolare Spindel entstand. Diese Befunde werden allgemein so interpretiert, daß in den Kinetochoren die eigentlichen Spindelorganisatoren vermutet werden. Die Centriolen jedoch, obwohl gewöhnlich im Zentrum der Spindelpole gelegen, sind in diesem Modell für Bildung und Funktion der Spindel bedeutungslos.

Die Befunde von DIETZ (1959, 1966) lassen allerdings auch eine andere Interpretation zu. Es ist denkbar, daß es sich bei Centriolen und Kinetochoren um gleichwertige MTOCs handelt, die sich bei der Spindelbildung ergänzen (MAREK, 1978) aber auch ersetzen können. So läßt sich erklären, daß in Abwesenheit der Centriolen eine bipolare Spindel gebildet wird (Kinetochoren als Spindelorganisatoren), bei Anwesenheit mehrerer Centriolen aber eine mehrpolige Spindel entsteht (Centriolen als Poldeterminanten; Centriolen u n d Kinetochoren als Spindelorganisatoren).

Ein anderes Modell der Spindelentstehung, das auf Mikrotubuli-organisierende Zentren als Spindelorganisatoren verzichtet, diskutiert LUYKX (1970). Er hält es für denkbar, daß Bildung und Orientierung bipolarer Spindeln in bestimmten Zellen durch eine stets vorhandene cytoplasmatische Organisationsstruktur gewährleistet werden, für die jedoch ein morphologisches Korrelat bisher noch nicht bekannt ist. Dieses Ordnungsprinzip könnte auch in den Mikrotubuli und den anderen Spindelkomponenten zu suchen sein (LUYKX, 1970): Die Entstehung einer bipolaren Spindel wäre in diesem Fall das Resultat einer Wechselwirkung zwischen den einzelnen Spindelkomponenten, die sich gegenseitig zur Bildung parallel ausgerichteter Spindelfasern befähigen und somit auch in Abwesenheit der Mitosezentren bipolare Spindeln bilden können.

Obwohl beim gegenwärtigen Stand der Centriolen- und Spindelforschung viele Autoren die Interpretation ihrer Ergebnisse im Rahmen bislang akzeptierter Denkmodelle der Spindelbildung und -entstehung nicht mehr für zulässig halten (z.B. BERNS et al., 1977), kann auf diese Möglichkeit der Interpretation von den in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Befunde nicht verzichtet werden. Die Vielfalt der unterschiedlichen Modelle der Spindelbildung läßt es deshalb nötig erscheinen, die Entstehung multipolarer Mitosen unter wenigstens zwei verschiedenen Aspekten zu erörtern (wobei jedoch schon hier darauf hingewiesen sein sollte, daß dies eine nach methodischen Gesichtspunkten gewählte Einteilung ist, die keineswegs andere, nicht erwähnte Hypothesen und Kombinationen scheinbar entgegengesetzter Denkmodelle ausschließen will):

1) Spindelorganisatoren bi- und multipolarer Mitosen sind die Centriolen. Anzahl und Lage der Centriolen bestimmen die Zahl der Spindelpole und die Gestalt der Metaphasenfigur.

2) Die Centriolen sind für Bildung, Orientierung und Form der Spindelfigur bedeutungslos. Der oder die Spindelorganisatoren sind in anderen, nicht-centriolären Strukturen oder Systemen zu suchen.

Zahlreiche, in ihrer Konzeption sehr unterschiedliche Darstellungsmethoden von Centriolen und Spindelapparat sind für die funktionelle Centriolenforschung letztlich nur von färbetechnischem Interesse (WILSON, 1925; LWOFF, 1950; STUBBLEFIELD und BRINKLEY, 1967; HENEEN, 1970; PERA, 1974; WEBER et al., 1975; HOWELL et al., 1977; CONNOLLY und KALNINS, 1978); die Untersuchungen von VAN BENEDEN und NEYT (1887) und BOVERI (1887) bleiben indes in funktioneller Hinsicht "in ihrer Klarheit bisher unübertroffen" (GRUNDMANN, 1971). Elektronenmikroskopische Untersuchungen gestatten uns zwar eine Vorstellung von der ultrastrukturellen Morphologie einzelner Spindelpolregionen (FAWCETT, 1966; KRSTIC, 1976; RIEDER, 1979), da aber bisher erst sehr wenige unterschiedliche Zellarten vollständig durch Serienschnitte auf Zahl, An-

ordnung und Besonderheiten aller Spindelpole bzw. Centriolen untersucht werden konnten (Übersicht bei FUGE, 1977), ist nicht einmal für bipolare Spindelfiguren eine eindeutige Aussage über den Aufbau sämtlicher Pole einer Mitose möglich.
In multipolaren Mitosen war der ultrastrukturelle Aufbau der Polregionen bis vor kurzem unbekannt; erst in jüngster Zeit wurden die Polregionen mehrpoliger Spindelfiguren elektronenmikroskopisch untersucht (BRENNER et al., 1977; HENEEN, unveröffentlicht, persönliche Mitteilung). HENEEN stellte fest, daß die einzelnen Polregionen mehrpoliger Spindelfiguren unterschiedliche Strukturen aufweisen können. Er fand Polregionen, welche

a) die reguläre, auch in bipolaren Mitosen beobachtete Centriolenkonfiguration erkennen ließen (d.h. ein Centriolenpaar bestehend aus einem größeren 'Muttercentriol' und einem ihm im rechten Winkel anliegenden kleineren 'Tochtercentriol', beide häufig auch als 'subunits' bezeichnet);
b) sich aus mehreren unterschiedlich nahe beieinanderliegenden Centriolen zusammensetzten (Varianten von 'sehr nahe' bis 'weit entfernt'); und Polregionen, welche
c) scheinbar nur aus anderen Komponenten wie fibrillären Massen, Procentriolen, amorphem elektronendichten Material etc. bestanden.

HENEEN sieht in seinen Beobachtungen die Bestätigung dafür, daß die Polregionen multipolarer Mitosen nicht alle durch dieselben spezifischen Strukturen (wie z.B. die Centriolen sie darstellen) charakterisiert sein müssen (vgl. auch BRENNER et al., 1977). Damit würden multipolare Mitosen durchaus auch andersartig beschaffene Polregionen haben können als bipolare Mitosen, deren Pole in tierischen Zellen regelmäßig centrioläres Material aufweisen. Allerdings sollte auch hier daran gedacht werden, daß im Ultradünnschnitt nicht immer alle Zellorganellen und sonstigen Zellbestandteile erkennbar sind.
Im Gegensatz zu den Befunden von HENEEN (1970) und ROOS (1976) ließen die in dieser Arbeit beschriebenen Lebendbeobachtungen in der Regel die eindeutige Identifizierung von Spindelpolen und polaren Regionen nicht zu; Zahl und Lage der Spindelpole mußten indirekt ermittelt werden (Kap. III.3./10./20.). Eine Erörterung

der Entstehung multipolarer Mitosen kann sich deshalb nicht auf direkte Beobachtungen der Polregionen und ihrer Untereinheiten stützen, sondern muß auf indirekt erhobene Befunde und derer Vergleich mit bekannten mitotischen Mechanismen zurückgreifen.

IV.7 a) Polyploidie und multipolare Mitosen

Ein Zusammenhang zwischen Polyploidie und mehrpoligen Spindelfiguren ist seit langem bekannt (FOL, 1879) und immer wieder bestätigt worden. Auch die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen zeigen, daß multipolare Mitosen besonders häufig in polyploiden Zellen auftreten (Kap. III.19.: Tab.30-33/36): in einer Zufallsstichprobe einkerniger, in der Mehrzahl diploider Zellen fand sich nur in 3.2 % aller Mitosen eine mehrpolige Anordnung des Spindelapparates; in polyploiden Zellen dagegen waren 58.9 % aller Mitosen multipolar. Häufigkeitsunterschiede mehrpoliger Mitosen waren hierbei zwischen einkernigen polyploiden Zellen mit 35.5 % und zweikernigen polyploiden Zellen mit 66.7 % festzustellen, was darauf hinweist, daß neben der Polyploidie auch die Mehrkernigkeit das Auftreten multipolarer Mitosen begünstigt (NORMAN, 1896; BESSIS et al., 1958; SISKEN und KINOSITA, 1961; LEVIS und MARIN, 1963; HENEEN, 1970; PERA, 1970; BRENNER et al., 1977).
Neben diesen Faktoren können auch zunehmendes Alter bzw. Entartungsgrad der Zellkultur zu einer erhöhten Anzahl multipolarer Mitosen führen: In polyploiden Zellen der aneuploiden Kultur waren multipolare Mitosen stets weitaus häufiger anzutreffen als in polyploiden Zellen der euploiden (jüngeren) Kultur.
Auch der Ploidiegrad selbst steht in Zusammenhang mit der Häufigkeit multipolarer Mitosen (HENEEN, 1970; PALITTI und RIZZONI, 1972): So fanden sich in den beobachteten 6n-Zellen und hochpolyploiden Zellen mehr als 83 % multipolare Mitosen; dagegen waren 63.6 % der 5n-Zellen und nur 45.3 % der 4n-Zellen in der Mitose durch mehrpolige Spindelfiguren charakterisiert. Die Häufigkeit mehrpoliger Mitosen in triploiden Zellen war mit 72.7 % in dieser Reihenfolge jedoch außergewöhnlich hoch, was möglicherweise mit der geringen Zahl der Beobachtungen erklärt werden kann (vgl. Tab.33).

Das häufige Vorkommen multipolarer Mitosen in polyploiden und mehrkernigen Zellen wird allgemein mit der in diesen Zellen regelmäßig erhöhten Centriolenzahl in Zusammenhang gebracht (ALTMANN, 1961, 1964; BESSIS et al., 1958; SCHMID, 1966; HENEEN, 1970; PERA, 1975). So konnte HENEEN (1970) in Rattenkänguruhzellen beobachten, daß die Entstehung mehrpoliger Spindelfiguren durch das Wandern mehrerer Centriolen in Richtung der zukünftigen Spindelpole eingeleitet wurde. Das Vorkommen von Centriolen in den Zentren der Polregionen multipolarer Mitosen ist schon seit langem bekannt (BOVERI, 1888). Einen kausalen Zusammenhang zwischen der erhöhten Centriolenzahl und dem Auftreten mehrpoliger Spindelfiguren herzustellen, erscheint jedoch nur dann gerechtfertigt, wenn die Bedeutung der Centriolen für die Spindelpolbildung eindeutig feststeht. Die lange Zeit allgemein akzeptierte Auffassung, Centriolen seien die letztlich für die Bildung eines Spindelpols verantwortlichen Zellorganellen, wird jedoch, wie oben ausgeführt, immer häufiger angezweifelt.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, daß diploide Zellen in der G_1-Phase zwei Centriolen besitzen; in osteoklastischen Riesenzellen konnten stets doppelt so viele Centriolen wie (diploide?) Kerne nachgewiesen werden (MATTHEWS et al., 1967). Die Verallgemeinerung, daß in polyploiden G_1-Phase-Zellen die Zahl der Centriolen direkt proportional der zellulären Ploidie sei, scheint aufgrund zahlreicher elektronenmikroskopischer Untersuchungen gerechtfertigt (ALTMANN, 1964). Hierbei würde für eine Zelle in der G_1-Phase gelten: Centriolenzahl = Zahl der Chromosomensätze x 1 ; in der G_2-Phase allerdings müßte die Formel: Centriolenzahl = Zahl der Chromosomensätze x 2 lauten, da sich bis zum Beginn der G_2-Phase sowohl das genetische als auch das centrioläre Material verdoppelt hat, die Zahl der Chromosomensätze selbst (also die Ploidie) jedoch nicht angestiegen ist. Da die Spindelpolregionen jeweils zwei Centriolen erkennen lassen, gilt für die Anzahl potentieller Spindelpole pro Zelle: [Spindelpole] = [Ploidie]. Die Möglichkeit, daß Pole auch weniger als zwei Centriolen aufweisen können, soll hier fürs erste unberücksichtigt bleiben.

Die Lebendbeobachtung polyploider Zellen ergab indes, daß die tatsächlich vorhandene Spindelpolzahl nur in wenigen Fällen der vom Ploidiegrad der Zelle eigentlich zu erwartenden Anzahl entsprach (Spindelpole = Ploidie; hier wurde davon ausgegangen, daß ein Pol stets zwei Centriolen enthält). Um die Diskrepanz zwischen der erwarteten und der beobachteten Polzahl ausdrücken zu können, wurde der Begriff des Polzahldefizits eingeführt (Kap. III.11 b), wobei gilt: Polzahldefizit = ⌈beobachtete Pole⌋ - ⌈errechnete Pole⌋. Die zu diesem Punkt in Kapitel III.11 b näher erörterten Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1) Das Polzahldefizit polyploider Zellen ist (bis auf sehr wenige Ausnahmen) stets negativ oder 0, wobei die negativen Werte zwischen -1 und -9 schwanken, das positive Poldefizit (also ein Zuviel an Spindelpolen im Verhältnis zur Ploidie) jedoch den Wert +1 nie überschreitet (Tab.10).
2) Defizitmaxima liegen in den meisten untersuchten Zellkollektiven bei -2.
3) Beim Vergleich der Polzahldefizithäufigkeiten in polyploiden ein- und zweikernigen Zellen (Tab.10) findet sich bei den zweikernigen Zellen eine Abflachung und Verbreiterung der Häufigkeitsverteilung nach beiden Seiten.
4) Bei tetraploiden Zellen (Tab.10) ist zu erkennen, daß die Häufigkeitsverteilung der Polzahldefizitwerte von zweikernigen Zellen im Vergleich zu derjenigen der einkernigen leicht nach rechts verschoben ist, was darauf hinweist, daß tetraploide zweikernige Zellen in der Regel mehr Spindelpole bilden als tetraploide einkernige Zellen.
5) Eine Übereinstimmung zwischen Zahl der Chromosomensätze und Zahl der Spindelpole (Polzahldefizit = 0) findet sich nur in ca. 20 % (maximal 25.4 %) der beobachteten Mitosen (Tab.10).

Unter der Voraussetzung, daß die Zahl der Centriolen nicht willkürlichen Schwankungen unterliegt (HOWELL et al., 1977), sondern jeweils nach der oben erläuterten Regel determiniert ist (Centriolenzahl = Ploidie x 2 - und daraus abgeleitet: ⌈Spindelpole⌋ = ⌈Ploidie x 1⌋), ergeben sich aufgrund der Untersuchungsbefunde folgende Fragen:

1) Warum bilden zweikernige polyploide (tetraploide) Zellen im Durchschnitt Spindelfiguren mit mehr Polen als einkernige polyploide (tetraploide) Zellen?
2) Warum ist in der überwiegenden Mehrzahl der Zellen die tatsächlich beobachtete Spindelpolzahl kleiner als die jeweils errechnete Anzahl potentieller Spindelpole?

Die Beantwortung dieser Fragen soll am Beispiel je einer tetraploiden ein- und zweikernigen Zelle erfolgen: In Abbildung 65 sind ein tetraploider bzw. zwei diploide Prophasekerne und Centriolen schematisch dargestellt, wobei jedes Muttercentriol schon das in der durchlaufenen S-Phase gebildete kleinere Tochtercentriol (Procentriol) erkennen läßt. In beiden tetraploiden Zellen findet sich dieselbe Muttercentriolenzahl (2 x 2); die noch unreifen Procentriolen werden hier wegen ihrer fehlenden funktionellen Bedeutung nicht berücksichtigt.

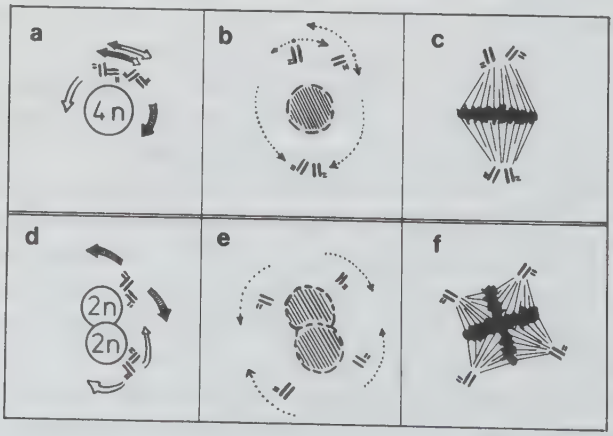


Abbildung 65: Denkbares Centriolenverhalten in tetraploiden einkernigen (a-c) und zweikernigen Zellen (d-f). Pfeile geben Bewegungsrichtung der Centriolenkomplexe (Muttercentriol und Tochtercentriol) an.

Lichtmikroskopische (HENEEN, 1970; PERA, 1975) und elektronenmikroskopische Untersuchungen (MATTHEWS et al., 1967; BRENNER et al., 1977) zeigen, daß in zwei- und mehrkernigen Zellen jeweils zwei, in Einzelfällen auch mehrere Centriolen neben jedem Kern liegen (Abb.65a/d); die Centriolengruppen selbst können hier durch einen breiten cytoplasmatischen Zwischenraum voneinander getrennt sein. Diese Beobachtungen führten zu der Vermutung, daß die Kerne mehrkerniger Zellen auch mit voneinander getrennten und unabhängigen Centriolengruppen in Mitose gehen (HENEEN, 1970). Hierbei trennen sich die Centriolen einer Gruppe bzw. eines Diplosoms (= zwei Centriolen mit je einem Procentriol) und bilden je einen eigenen Spindelpol (Abb.65e). Bei mehreren, weit auseinanderliegenden Diplosomen ist die Wahrscheinlichkeit, daß jedes Muttercentriol als potentieller Spindelpol alleiniges Zentrum einer Polregion wird, größer als in einkernigen Zellen derselben Ploidiestufe (Abb.65a), in denen dieselbe Anzahl Centriolen relativ dicht gepackt nebeneinanderliegen kann (ROOS, 1973). Hierdurch wird bewirkt, daß benachbarte Centriolen häufig nicht oder nur über eine sehr geringe Distanz auseinanderweichen und schließlich in morphologischer und funktioneller Hinsicht einen gemeinsamen Spindelpol bilden (Abb.65b). Derselbe Effekt kann aber auch dadurch erzielt werden, daß sämtliche Centriolen zu Beginn der Prophase zwar auseinanderrücken, dann aber aufgrund des geringen Kernumfanges wieder mit einem Centriol der Gegenseite zusammentreffen und jetzt mit diesem zu einer Polregion verschmelzen (Abb.65b/c).
Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Lebendbeobachtungen lassen beide Möglichkeiten wahrscheinlich erscheinen. So konnte beobachtet werden, wie aus einer Prometaphase mit wenigstens vier Astern (Abb.20) schließlich eine dreipolige Metaphasenfigur hervorging. Ferner fanden sich Mitosen, in denen am Konfluieren der Prometaphasechromosomen erkennbar wurde, daß Pole einer mehrpoligen und mehrstrahligen Figur zu einem einzigen Pol einer jetzt bipolaren Spindel zusammenrückten (Abb.31-33).
Die Untersuchungen der räumlichen Lage von Spindelpolen mehrpoliger Mitosen (Kap.III.10./20.) zeigen, daß eine Polregion

durchaus von zwei oder mehr benachbarten Centriolen gebildet werden kann, gleichgültig, ob diese Centriolen seit der frühen Prophase zusammenliegen oder erst später unter sichtbarer Umgruppierung der Prometaphasechromosomen aufeinandergetroffen sind.
Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen bei anderen Species (z.B. Rattenkänguruh) bestätigen, daß das Auseinanderweichen der beiden Centriolen eines Diplosoms verzögert oder gar unterbunden werden kann (TAYLOR, 1959; ROOS, 1973a/b; RATTNER und BERNS, 1973). Damit läßt sich die Entstehung von Viel-Centriolen-Polen in multipolaren Mitosen erklären (HENEEN, pers. Mitteilung). (In einigen zu den Langzeitbeobachtungen angefertigten Abbildungen wurden zur Erläuterung der hier diskutierten denkbaren Centriolenpositionen Diplosomen und einzelne Centriolen eingezeichnet, ohne daß diese jedoch während der Lebendbeobachtung oder danach hätten beobachtet werden können.) Derartige, aus zwei Centriolen bestehende Spindelpole multipolarer Mitosen wurden schon von WILSON und LEDUC (1948) in polyploiden Zellen der Mäuseleber beschrieben; HENEEN (1970) hielt es aufgrund seiner Untersuchungen für sehr wahrscheinlich, daß in mehrpoligen Mitosen Polregionen von mehreren, eng beieinanderliegenden aber auch von nur benachbarten oder sogar von relativ weit auseinanderliegenden Centriolen gebildet werden können (vgl. Kap.III.10./20/21.), so wie es u.a. MAZIA (1977) in künstlich induzierten multipolaren Mitosen von Seeigeleiern zeigen konnte. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Spindelpole multipolarer Mitosen bestätigen diese Vermutungen (HENEEN, unveröffentlicht).
Das variable räumliche Centriolenverhalten in polyploiden Zellen ist eine von mehreren Erklärungen für die Entstehung eines negativen Polzahldefizits. Ein negatives Polzahldefizit kann jedoch auch durch einen unterbrochenen Centriolenreproduktionszyklus oder eine direkte Inaktivierung der Centriolen (WILSON, 1925; FRIEDLÄNDER und WAHRMANN, 1970) bzw. eine Nicht-Teilnahme verschiedener Centriolen an der Spindelbildung (PETERSON und BERNS, 1979) hervorgerufen werden. Neben diesen Möglichkeiten finden sich noch weitere theoretisch denkbare Erklärungen.

IV.7 b) Multipolarität als vererbbare Zelleigenschaft

In Abbildung 66 ist die in tetraploiden Zellen besonders häufig anzutreffende dreistrahlige dreipolige Metaphase (PERA und SCHWARZACHER, 1969; PERA, 1970) so dargestellt, daß jeweils zwei der insgesamt vier Muttercentriolen (zusammen mit ihren Procentriolen) in der Polregion einer zukünftigen triploiden (A'3') bzw. diploiden Tochterzelle (B'4') zu einem gemeinsamen Pol zusammengerückt sind; alle übrigen Spindelpole werden von funktionellen Einzel-Centriolen (hier definiert als Muttercentriol u n d Procentriol) gebildet. In der auf die Mitose folgenden S-Phase erfolgt dann als Vorbereitung für die nächste Mitose eine Verdoppelung von Chromosomen und Centriolen.

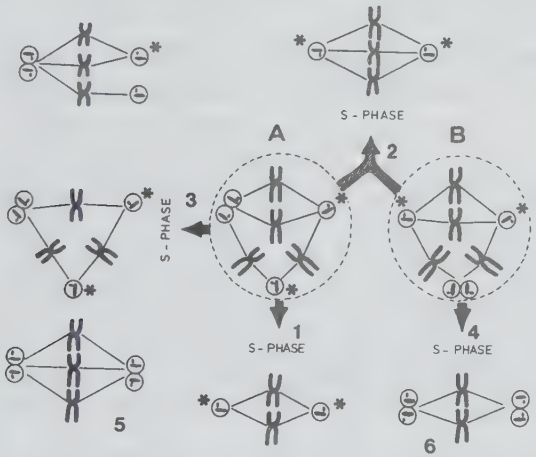


Abbildung 66: Verhalten der Centriolen in den diploiden und triploiden Tochter-Mitosen einer dreipoligen, dreistrahligen tetraploiden Mitose (A und B zeigen die beiden denkbaren Anordnungen der insgesamt vier Poldeterminanten).
* kennzeichnet 'stabile' Zellinien (d.h. die Zahl der Spindelpole bleibt hier in aufeinanderfolgenden Zellteilungen unverändert).

Diploide und triploide Tochterkerne, die aus einem Ein-Centriol-Pol hervorgegangen sind ('1' und '2'), können stabile diploide bzw. triploide Zellinien bilden, da aufgrund ihres Centriolenbestandes (zwei potentielle Spindelpole pro Teilungsfigur) in den nachfolgenden Teilungen eine Multipolarität ausgeschlossen ist. Andererseits sind die aus Zwei-Centriol-Polen hervorgegangenen diploiden und triploiden Tochterkerne ('3' und '4') durch ihre im Verhältnis zur Norm (= zwei Centriolen) erhöhte Centriolenzahl zur Bildung einer mehrpoligen Spindelfigur geradezu prädestiniert, womit die Beobachtung der Vererbbarkeit von Multipolarität in Zellkulturen (RIZZONI et al., 1974) eine theoretisch mögliche Erklärung findet.

Die Anordnung von Chromosomen und Centriolen in den Metaphasenfiguren der Tochterzellen von Zwei-Centriol-Polen kann sehr variantenreich sein; in Abb.66 '3' und '4' sind nur einige mögliche Kombinationen aufgeführt. Es gilt jedoch auch hier wiederum, daß Ein-Centriol-Pole zu stabilen und Zwei-Centriol-Pole zu in ihrem Ploidiegrad voneinander abweichenden Zellinien führen können (vgl. PERA, 1975). Die Etablierung einer stabilen triploiden bzw. diploiden Zellinie ist im letztgenannten Fall ('5' und '6') kaum möglich, da innerhalb der nächsten Zellzyklen durch multipolare Mitosen eine Reduktion der Zellploidie bis zur diploiden oder gar haploiden Stufe zu erwarten ist. Für die Richtigkeit dieser theoretischen Erörterungen finden sich bei PERA (1975) und PERA und SCHOLZ (1975), aber auch in dieser Arbeit (z.B. Kap.III.14./19.), zahlreiche Hinweise. Aus Abb.66 folgt somit:

1) Die Tendenz zur Mehrpoligkeit kann auch in einkernigen Zellinien "erblich" (RIZZONI et al., 1974) sein, sofern diese (diploiden und polyploiden) Zellen von Zwei- oder Mehr-Centriol-Polen abstammen.
2) Stabile diploide, triploide und möglicherweise auch höherploide Zellinien können ihren Ursprung in Ein-Centriol-Polen (multipolarer) Mitosen haben. Eine Mehrpoligkeit ist in diesen Zellen unter der Voraussetzung 'ein reifes Centriol pro Pol' nicht mehr möglich.

IV.7 c) Ein-subunit-Pole

In Säugerzellen entstehen bipolare Teilungsspindeln durch die Bildung mikrotubulärer Verbindungen zwischen zwei auseinanderstrebenden Centriolenpaaren. Jedes Centriolenpaar setzt sich aus einem "reifen" Muttercentriol und einem "unreifen" Tochtercentriol (Procentriol) zusammen (beide werden auch als "subunits" bezeichnet). Die Auffassung ist weit verbreitet, daß in der Regel nur die Muttercentriolen mit den Spindelmikrotubuli in Verbindung stehen (MURRAY et al., 1965; STUBBLEFIELD und BRINKLEY, 1967), die unreifen Tochtercentriolen jedoch zur Bildung eines eigenen Spindelpols (noch) nicht in der Lage sind (Übersicht bei LUYKX, 1970). Allerdings deutet die Tatsache, daß in ungefähr diploiden Zellen mit nur zwei potentiellen Mitosezentren (= Centriolenpaar) mehrpolige Spindelfiguren beobachtet werden konnten, auf eine mögliche Teilung eines Mitosezentrums in zwei hin (HENEEN, 1970); somit wäre auch die Bildung eines Spindelpols durch ein Procentriol denkbar.
Die These, Spindelpole beständen stets aus zwei Centriolen, wurde indes schon von zahlreichen Autoren eingeschränkt. Nach TIMONEN (1950) z.B. sollen überzählige Spindeln bzw. Spindelpole dadurch entstehen, daß sich dann, wenn die Bildung der Metaphasenplatte noch nicht abgeschlossen ist oder zu lange dauert, eines oder mehrere Centriolenpaare in ihre beiden "subunits" teilen, die jetzt eigene Pole bilden können (auch: SCHREINER und SCHREINER, 1905; DIETZ, 1966). McGILL und BRINKLEY (1975) konnten zeigen, daß in vitro beide subunits eines Centriolenpaares zur Polymerisierung von Mikrotubuli-Monomeren in der Lage sind. Eine "Wertigkeit" der Centriolen, wonach nur die Muttercentriolen, nicht aber die unreifen Tochtercentriolen Spindelfasern induzieren bzw. bilden können, fand sich bei den in-vitro-Experimenten nicht. MAZIA et al.(1960) induzierten in Seeigeleiern eine Trennung der beiden subunits eines Centriolenpaares, was zur Bildung von Ein-subunit-Polen (= Pole mit nur einem reifen oder "unreifen" Centriol) führte. Bei der nachfolgenden Zellteilung konnten diese Pole nach funktionellen Gesichtspunkten

nicht mehr von den regulären (Zwei-subunit-) Polen unterschieden werden. Ähnliche Resultate erzielten auch DEUTCH und SHUMWAY (1973). RUSTAD (1959) und LEVIS und MARIN (1963), die multipolare Mitosen nach Einwirkung ionisierender Strahlen fanden, hielten eine strahlenbedingte Trennung der beiden subunits eines Paares als Ursache zusätzlicher Spindelpole für möglich. In der zweiten meiotischen Teilung von Oocyten und Spermatocyten sind Spindelpole, in deren Zentrum nur ein einziges Centriol liegt (Ein-subunit-Pole), besonders häufig beobachtet worden (v.KORFF, 1901; PAYNE, 1927; JOHNSON, 1931; WALTERS, 1960; COSTELLO, 1961; FRIEDLÄNDER und WAHRMANN, 1970).

Obwohl die Existenz von Spindelpolen mit nur einem Centriol im Zentrum der Polregion nicht mehr generell ausgeschlossen werden kann, besteht doch noch Einstimmigkeit darüber, daß in der mitotischen Zelle nur "reife", nicht aber "unreife" Centriolen (d.h. Procentriolen) einen Spindelpol bilden können. Eine diploide Zelle mit insgesamt zwei reifen Muttercentriolen und zwei unreifen Tochtercentriolen kann theoretisch also nur dann Vierpoligkeit erzielen, wenn die noch funktionell unbedeutenden, unreifen Procentriolen einen zeitlich definierten Reifungsprozeß durchlaufen haben. Dieser Prozeß könnte allerdings schon im Falle einer leichten Asynchronie von Kern- und Centriolenzyklus in Gang gesetzt werden (siehe nächstes Kapitel). Unter dieser Prämisse müßte die Wahrscheinlichkeit der Bildung einer multipolaren Mitose in zweikernigen Zellen mit asynchronen, also weit gegeneinander verschobenen Zellzyklen erhöht sein. Tatsächlich fand PERA (1970, 1975) in mehrkernigen Zellen mit asynchronen S-Phasen ausschließlich multipolare Spindelfiguren.
Die in dieser Arbeit vorgelegten Befunde geben keine direkten Hinweise für die Existenz von Ein-subunit-Polen in lebenden mitotischen Zellen. Ein positives Polzahldefizit, das theoretisch für die Existenz eines derartigen Spindelpols sprechen könnte, fand sich nur äußerst selten (Tab.10) und kann zudem auf andere, näherliegende Ursachen zurückgeführt werden. Es sollte jedoch hier erwähnt werden, daß selbst bei einem negativen Polzahldefizit durchaus Spindelpole mit nur einem Centriol theoretisch vor-

handen sein können, sofern andere Pole derselben Metaphasenfigur von jeweils mehreren Centriolen gebildet werden. Bipolare Mitosen haploider Zellen und multipolare Mitosen einkerniger diploider Zellen fanden sich nicht. Multipolare Mitosen in zweikernigen diploiden Zellen lassen sich mit der in diesen Zellen wahrscheinlich erhöhten Centriolenzahl erklären und werden nicht als Zeichen für die Existenz eines oder mehrerer Ein-subunit-Pole gewertet. Aufgrund ihrer Herkunft kann in zweikernigen diploiden Zellen (also Zellen mit zwei haploiden Kernen und theoretisch nur einem Centriolenpaar) die Centriolenzahl dadurch erhöht sein, daß jeder der beiden Kerne aus einem Spindelpol mit regulärer Centriolenzahl hervorgegangen ist. Dadurch würde sich die Zahl potentieller Spindelpole (bestehend aus je einem Mutter- und Tochtercentriol) in der zweikernigen Zelle auf vier erhöhen; multipolare Mitosen mit m e h r als vier Spindelpolen wurden in zweikernigen diploiden Zellen nicht beobachtet. Es fand sich auch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten multipolarer Mitosen und einem asynchronen Prophasebeginn, der als Ausdruck eines asynchronen Kernzyklus mit asynchronem Centriolenzyklus und beschleunigter Ausreifung von Procentriolen hätte gewertet werden können.

IV.7 d) Centriolenzyklus

Obwohl die Bedeutung der Centriolen für die Entstehung der Spindelpole seit langem postuliert wird, konnte erst in jüngerer Zeit der centrioläre Generationszyklus genauer untersucht werden (ROBBINS et al., 1968; STUBBLEFIELD, 1968; BRINKLEY und STUBBLEFIELD, 1970; RATTNER und PHILLIPS, 1973; WENT, 1977). Nach der gegenwärtigen Vorstellung sind Centriolen semi-autonome Zellorganellen, die zur Selbstverdoppelung in der Lage sind, deren Reproduktionszyklus mit dem Kernzyklus jedoch weitgehend synchronisiert ist (Abb.67). Der centrioläre Reproduktonsvorgang wird in mehrere Abschnitte unterteilt (MAZIA et al., 1960; STUBBLEFIELD, 1968; WENT, 1977):

1) Die generative Phase, in der in unmittelbarer Nähe der beiden Centriolen (= ein Diplosom, bestehend aus einem reifen Mutter-

centriol und einem noch unreifen Tochtercentriol, die beide aus einer gemeinsamen Polregion der letzten Mitose hervorgegangen sind) die Entstehung von insgesamt zwei wesentlich kleineren Procentriolen beobachtet werden kann.
2) Die Wachstumsphase, in der unter dem Einfluß der Procentriolen die morphologische und möglicherweise auch funktionelle Ausreifung des Tochtercentriols erfolgt, so daß jetzt zwei reife Centriolen mit je einem Procentriol (jetzt Tochtercentriol genannt) vorliegen.
3) Die Trennungsphase, in der die beiden reifen Centriolen zusammen mit ihren Tochtercentriolen auseinanderweichen, um zum Zentrum je eines Spindelpols zu werden.

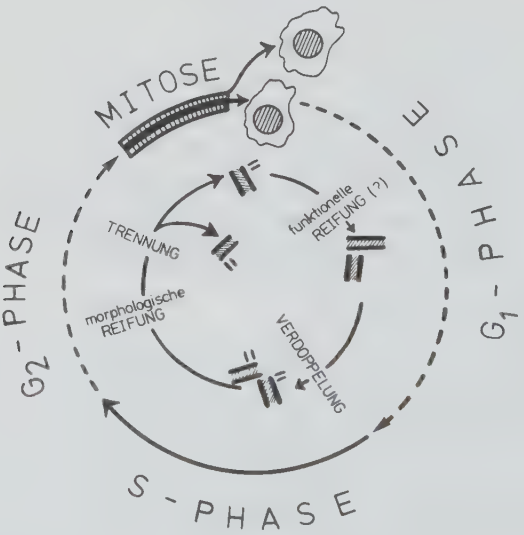


Abbildung 67: Schematische Darstellung des Zellkernzyklus (äußerer Kreis) und des Centriolenzyklus (innerer Kreis).
Die dunkel schraffierten Doppelstriche stellen reife Centriolen dar, die kleineren hellen Doppelstriche repräsentieren die Procentriolen.
Abbildung modifiziert nach STUBBLEFIELD (1968) und GUTTMAN (1971).

Für die Erörterung möglicher Entstehungsmechanismen multipolarer Mitosen sind vor allem Variationen oder Störungen im Centriolenzyklus und in der Kern-Centriolen-Zyklus-Synchronie von Interesse. Besondere Bedeutung kommt in diesem Zusammenhang dem Zeitpunkt der Centriolenverdoppelung (generative Phase) und dem Zeitpunkt der Ausreifung von funktionell unbedeutenden, unreifen Tochtercentriolen zu.

Centriolenverdoppelung: Obwohl wiederholt gezeigt werden konnte, daß die Centriolenverdoppelung in der späten Telophase/frühen Interphase (MAZIA et al., 1960) oder in der späten G_1- bzw. frühen S-Phase (RATTNER und PHILLIPS, 1973) erfolgen kann, wird heute doch allgemein angenommen, daß die Centriolenverdoppelung ein eng an die S-Phase gekoppelter Vorgang ist (MAZIA, 1977; WENT, 1977). Die eigentliche Verdoppelung scheint hierbei in der frühen S-Phase zu erfolgen (ROBBINS et al., 1968; STUBBLEFIELD, 1968; BRINKLEY und STUBBLEFIELD, 1970; Übersicht bei WENT, 1977).

Centriolenreifung: Der Übergang vom morphologisch unreifen (d.h. kleineren) Tochtercentriol zum größeren, reifen Centriol wird aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen allgemein mit dem Beginn der Polbildungsfähigkeit gleichgesetzt, ohne daß jedoch für einen gleichzeitigen funktionellen Reifungsprozeß direkte Beweise vorlägen. Der Zeitpunkt des eigentlichen, funktionellen Reifungsvorganges kann indes nur indirekt ermittelt werden.
Unter in vitro-Bedingungen wird in HeLa-Zellen der morphologische Reifungsprozeß des Tochtercentriols noch vor der Mitose beendet (ROBBINS et al., 1968); in L-Zellen und PtK_2-Zellen dagegen erstreckt er sich bis in die frühen Mitosephasen (RATTNER und PHILLIPS, 1973; ROOS, 1973). Mit großer Wahrscheinlichkeit ist die morphologische Ausreifung des Tochtercentriols jedoch ein Vorgang, der vor, während und nach der Mitose im Kern-Centriolen-Zyklus lokalisiert sein kann, so wie es STUBBLEFIELD (1968) in Hamsterfibroblasten und ZELIG und WOLLMAN (1979) in Schilddrüsenepithelien unter in vivo-Bedingungen beobachten konnten.
Dies sind indes nur Erkenntnisse über die morphologische Reifung eines Centriols, d.h. sein Größerwerden bis zum Erreichen des endgültigen Ausmaßes. Ob die funktionelle Ausreifung (d.h. die

Fähigkeit, einen eigenen Spindelpol zu bilden) viel früher erreicht wird, konnte bisher in Zellen noch nicht eindeutig nachgewiesen werden. Experimentelle Untersuchungen deuten jedoch daraufhin, daß die funktionelle Ausreifung eines Centriols tatsächlich noch vor seiner morphologischen Ausreifung liegt, obwohl auch hier noch der direkte Beweis fehlt (STUBBLEFIELD, 1968). Aus diesem Grunde wurden in Abbildung 67 sowohl die (hier denkbare, jedoch nicht erwiesene) funktionelle als auch die morphologische Centriolenreifung eingezeichnet.

Durch Veränderungen im regulären Ablauf des Centriolenzyklus kann u.a. die Zahl potentieller Spindelpole und damit die Wahrscheinlichkeit der Entstehung mehrpoliger Spindelfiguren erhöht werden; hierbei ist vor allem an folgende Möglichkeiten zu denken:

1) Die vorzeitige Reifung der Procentriolen bewirkt, daß in einem einzigen Centriolenzyklus nicht nur zwei sondern drei oder vier Poldeterminanten (= Ein-subunit-Pole) gebildet werden können (ausgehend von e i n e m Mutter-Tochtercentriolenpaar).

2) Entkoppelung des Centriolenzyklus vom Kernzyklus kann dazu führen, daß im Zeitraum nur eines Kernzyklus mehrere vollständige Centriolenzyklen durchlaufen werden, wodurch mit jedem zusätzlichen Centriolenzyklus die Zahl der Poldeterminanten (Zwei-subunit Pole) verdoppelt wird.

Eine vorzeitige Ausreifung der Procentriolen zu Poldeterminanten (Ein-subunit-Polen) läßt sich experimentell erzielen: Durch Einwirkung von Colcemid konnte STUBBLEFIELD (1968) die Centriolentrennung so lange hinauszögern, bis auch die Procentriolen herangereift waren; nach Entfernung des Colcemids entstanden mehrpolige Spindelfiguren. Derselbe Effekt, die Bildung von insgesamt vier statt zwei reifen Centriolen bis zum Ende eines einzigen Centriolenzyklus, kann auch durch Actinomycin oder BrdU erzielt werden (WENT, 1977). Es ist vorstellbar, daß auch ohne chemische Eingriffe die vorzeitige Reifung von Procentriolen zu Poldeterminanten erfolgen kann. Als Indiz hierfür könnten zeitliche Differenzen in der Synchronie von Kern- und Centriolenzyklus gewertet werden, die aufgrund elektronenmikroskopischer

Aufnahmen in Prophasezellen festgestellt werden konnten (ZELIG und WOLLMAN, 1979).
Besonders groß scheint die Wahrscheinlichkeit einer vorzeitigen Procentriolenreifung in mehrkernigen Zellen zu sein, deren S-Phasen (bzw. Kernzyklen) asynchron verlaufen. In diesen Zellen kann neben der Gesamt-S-Phasenzeit (= Zeitraum vom Beginn der ersten bis zum Ende der letzten S-Phase aller Kerne) auch die Dauer der G_2-Phase und somit die gesamte Interphase verlängert sein (vgl. Kap. IV.1.). Für die Entstehung zusätzlicher Spindelpoldeterminanten bieten sich hier zwei Möglichkeiten an:

1) Durch die Asynchronie der beiden Kernzyklen wird die Interphase verlängert und der Beginn der Mitose somit verzögert. Da damit zu rechnen ist, daß wenigstens ein Centriolenzyklus (von mehreren in einer mehrkernigen Zelle) mit dem schnellsten Kernzyklus synchronisiert ist, wird in diesem Zyklus eventuell eine vorzeitige Procentriolenreifung erfolgen - denn der schnellere Kern wartet auf den langsameren, wogegen die zu dem schnelleren Kern gehörenden Centriolen wahrscheinlich keine Stagnation ihres Zyklus erfahren (vgl. hierzu Abb.68b: Entstehung von reifen Ein-subunit-Polen).

2) Da die Centriolenverdoppelung an die S-Phase des Kernzyklus gekoppelt zu sein scheint (WENT, 1977), ist es denkbar, daß bei mehreren asynchronen S-Phasen in einer mehrkernigen Zelle auch mehrere S-Phasen-gesteuerte Impulse zur Centriolenverdoppelung gegeben werden; bei synchronen Kernzyklen würden diese Impulse selbst in vielkernigen Zellen simultan erfolgen und als ein einziger Impuls gewertet werden. Durch die in zwei- und mehrkernigen Zellen mit asynchronen Kernzyklen verlängerte Interphase (siehe Kap. IV.1.) wird zudem die Ausreifung der zusätzlich entstandenen Procentriolen noch begünstigt; es kann somit zu einer erhöhten Anzahl reifer Zwei-subunit-Pole kommen.

Für diese beiden Möglichkeiten finden sich zahlreiche indirekte Hinweise: PERA (1970, 1975) stellte fest, daß die Mitosen aller untersuchten mehrkernigen Zellen mit asynchronen S-Phasen multipolar waren. In menschlichen Krebszellen beschrieben THERMAN

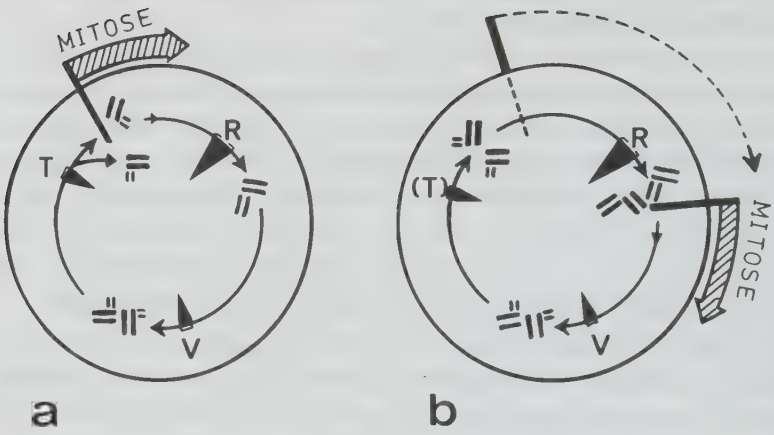


Abbildung 68: Schematische Darstellung der Entstehungsmöglichkeit zusätzlicher Poldeterminanten durch - in Relation zum Kernzyklus - vorzeitige Reifung der Procentriolen (b: nach STUBBLEFIELD, 1968)

a) Der Centriolenzyklus (innerer Kreis) verläuft synchron zum Kernzyklus (äußerer Kreis).
R = Zeitpunkt der Ausreifung aller unreifen Tochter- bzw. Procentriolen; V = Verdoppelung der Centriolen; T = Trennung der beiden reifen Centriolenpaare.

b) Verlängerung des Kernzyklus durch verspäteten Mitosebeginn bei zeitlich unverändertem Centriolenzyklus. Durch den verspäteten Mitosebeginn bedingt, können die Centriolen in einem einzigen Zyklus zweimal die Reifungsphase durchlaufen, so daß auch die Procentriolen zu Poldeterminanten werden: Zu Beginn der Mitose liegen vier potentielle Spindelpole vor (Ein-subunit-Pole). Bei experimenteller Verzögerung des Mitosebeginns unterbleibt die Trennung der reifen Centriolenpaare ' (T) '; sie erfolgt erst nach Entfernung des hemmenden Colcemids zu Beginn der verspätet einsetzenden Mitose; jetzt trennen sich sogar (evtl.) alle vier Einzelcentriolen und führen somit zur Entstehung einer multipolaren Mitose.

und TIMONEN (1954) eine hochgradige Asynchronie von Kern- und Centriolenzyklus, die als die eigentliche Ursache für die in Krebszellen häufig erhöhte Rate mehrpoliger Spindelfiguren angesehen werden könnte. HOWELL et al.(1977) halten es für möglich, daß multipolare Mitosen Folge einer Asynchronie sind, die nicht nur Kern- und Centriolenzyklus zeitlich gegeneinander verschiebt, sondern auch noch den Centriolenzyklus relativ zum Kernzyklus verkürzt. Hierdurch wird schließlich ein Kernzyklus von mehreren Centriolenzyklen begleitet; die Entstehung zusätzlicher Poldeterminanten (Zwei-subunit-Pole) und Multipolarität sind die Folge. CLEVELAND (1955) konnte in der Flagellate Barbulanympha multipolare Mitosen beobachten, die durch zusätzliche Verdoppelung der Centriolen ermöglicht worden waren. Derselbe Mechanismus wurde auch von SCHRADER (1941), THERMAN und TIMONEN (1954) und KNUDSEN (1958) als Ursache multipolarer Mitosen diskutiert.

Untersuchungen des centriolären Reproduktionsmechanismus machen deutlich, daß nicht allein die Polyploidie das Auftreten multipolarer Mitosen begünstigen kann. Störungen im Centriolenzyklus selbst bzw. eine veränderte Kern-Centriolen-Zyklus-Synchronie können denselben Effekt haben. Es ist denkbar, daß (alters- bzw. entartungsbedingte) Störungen im Centriolenzyklus auch für die unterschiedliche Häufigkeit multipolarer Mitosen in polyploiden Zellen der jüngeren (55.7 %) und der älteren Fibroblastenkultur (65.8 %) verantwortlich sind.

IV.7 e) De novo - Bildung von Centriolen

Es dürfte heute nicht mehr gerechtfertigt sein, in den Centriolen stabile, in ihrer Dauerhaftigkeit dem Zellkern vergleichbare Zellstrukturen zu sehen. Vielmehr sind Centriolen mit großer Wahrscheinlichkeit relativ labile Konglomerate zahlreicher Mikrotubulieinheiten. Diese Konglomerate können leicht wieder in ihre Bestandteile zerfallen; vor allem aber ist eine ebenso schnelle de novo-Synthese möglich, ohne daß der oben erwähnte Centriolenzyklus immer wieder durchlaufen werden muß (Diskussion bei FRIEDLÄNDER und WAHRMANN, 1970).

Die de novo-Bildung von Centriolen bzw. Basalkörperchen wurde von zahlreichen Autoren beobachtet (DIRKSEN, 1961; SCHUSTER, 1963; DINGLE und FULTON, 1966; MIZUKAMI und GALL, 1966; VAN ASSEL und BRACHET, 1966; OUTKA und KLAUSS, 1967); so ist die parthenogenetische Teilungsspindel ein markantes Beispiel dafür, daß neue Centriolen auch in Abwesenheit reifer Muttercentriolen de novo gebildet werden können (NUR, 1962; WEISENBERG und ROSENFELD, 1975). Nach LUYKX (1970) ist das Auftreten zusätzlicher Centriolen u.a. damit zu erklären, daß

1) neben den zur Polbildung befähigten aktiven Poldeterminanten, den Centriolen, zahlreiche inaktive Poldeterminanten vorliegen, die - evtl. durch chemische Substanzen - aktiviert werden (MAZIA, 1961, S.125), oder daß
2) Spindelpole bzw. Cytaster tatsächlich vollständig de novo entstehen. Dies würde bedeuten, daß zur Polbildung die Existenz bestimmter, von vorhandenen Polen abstammender aktiver oder inaktiver Einheiten (Centriolen) nicht immer Voraussetzung ist.

Es liegt somit auf der Hand, nicht nur für die Parthenogenese sondern auch für die Entstehung mehrpoliger Teilungsfiguren die de novo-Synthese zusätzlicher Centriolen in Erwägung zu ziehen.

IV.7 f) Umwandlung von Basalkörperchen zu Centriolen

Die Anzahl potentieller Spindelpole pro Zelle kann aber auch dadurch erhöht werden, daß eine Umwandlung bestimmter Zellorganellen zu Centriolen erfolgt. So ist schon lange bekannt, daß eine enge funktionelle und strukturelle Verwandtschaft zwischen Basalkörperchen (Kinetosomen) und Centriolen besteht (MAZIA, 1961; GRUNDMANN, 1971; KIRSCHNER, 1978). Die Untersuchungen von RUBIN und CUNNINGHAM (1973), SNELL et al.(1974) und HEIDEMANN und KIRSCHNER (1975, 1977) zeigen, daß die Umwandlung von Basalkörperchen zu Centriolen und damit zu Spindelpolen möglich ist; DIRKSEN (1968), SOROKIN (1968) und GALL (1971) konnten ebenfalls feststellen, daß Zellen bei Bedarf (z.B. zur Zilienbildung) eine große Anzahl von Centriolen bilden können.
Derselbe oder ein ähnlicher Mechanismus könnte auch für die Ent-

stehung zusätzlicher, als Poldeterminanten fungierender Centriolen bei der Bildung mehrpoliger Spindelfiguren infrage kommen.

IV.7 g) Centriolen und/oder pericentriolären Material als Poldeterminanten

Das im Zentrum eines Spindelpols gelegenen Centriolenpaar ist in der Regel von einer Hülle amorphen pericentriolären Materials (PICKETT-HEAPS, 1975) bzw. zahlreichen pericentriolären Satelliten (BRINKLEY und STUBBLEFIELD, 1970) umgeben.
Wie elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, enden die Spindelfasern in vielen Zellen nicht an den Centriolen selbst sondern vielmehr schon im Bereich des pericentriolären Materials (DeTHE, 1964; MURRAY et al., 1965; ROBBINS et al., 1968; DeHARVEN, 1968; ROOS, 1973; GOULD und BORISY, 1977), was somit die These von der im Bereich der Polregion alleinigen Spindelbildungsfähigkeit der Centriolen widerlegt. Diese Beobachtungen veranlaßten viele Autoren, nicht mehr in den Centriolen sondern vielmehr im pericentriolären Material die eigentliche, für die Bildung der Spindelpole verantwortliche Struktur zu sehen (PICKETT-HEAPS, 1969, 1975; BERNS et al., 1977; BRENNER et al., 1977). Die entscheidende Bedeutung des pericentriolären Materials für die Spindelpolbildung wurde weiterhin dadurch unterstrichen, daß sich in tierischen Zellen Pole fanden, die ausschließlich aus pericentriolärem Material bestanden; Centriolen fehlten hier regelmäßig (SZOLLOSI, 1972; BERNS und RICHARDSON, 1977; BRENNER et al., 1977). Zudem zeigten die Untersuchungen von BRENNER et al.(1977), daß sogar in Doppelmitosen acentrioläre Pole existieren können, die ausschließlich von pericentriolärem Material gebildet werden. In denselben Zellen fanden sich aber auch Spindelpole, die aus pericentriolärem Material u n d Centriolen bestanden (Abb.63b), so daß in ein und derselben Spindelfigur centrioläre und acentrioläre Pole existierten. Auch in multipolaren Mitosen konnten Pole mit den gleichen unterschiedlichen ultrastrukturellen Komponenten beobachtet werden (HENEEN, persönliche Mitteilung).
Die gegenwärtig vorliegenden Befunde über den ultrastrukturellen Aufbau der Polregionen bi- und multipolarer Spindelfiguren lassen

es somit wahrscheinlich erscheinen, daß insbesondere in Säugerzellen selbst bei geringer Centriolenzahl die Entstehung multipolarer Mitosen dadurch ermöglicht wird, daß neben den Centriolen auch das elektronendichte pericentrioläre Material die Funktion eines Mikrotubuli-organisierenden Zentrums (MTOC) übernehmen kann, ohne daß für seine Funktion als Spindelpol die Anwesenheit von Centriolen oder centriolären Bruchstücken notwendig wäre (BRENNER et al., 1977; HENEEN, persönliche Mitteilung). Dies kann als ein zusätzlicher Hinweis dafür gewertet werden, daß die Polyploidie nicht eine für die Entstehung zahlreicher Poldeterminanten bzw. Spindelpole unverzichtbare Voraussetzung ist, da allein durch das pericentrioläre Material die Zahl potentieller Spindelpole in jeder Zelle theoretisch verdoppelt ist.

IV.7 h) Entstehung zusätzlicher Pole durch "Spindelbruch"

Wenn die hier gegebenen Erörterungen der möglichen Entstehungsmechanismen multipolarer Mitosen auch stets unter der Voraussetzung eines regulären, ungestörten Mitoseablaufs erfolgen, so sollte doch nicht vergessen werden, daß auch erst durch die Beobachtungsbedingungen hervorgerufene (mechanische) Läsionen mehrpolige Spindelfiguren bedingen können.
HENEEN (1970) beobachtete in Rattenkänguruhzellen die Entstehung multipolarer Mitosen durch Verlängerung und "Bruch" bipolarer Spindelfiguren - ein Effekt, den er auf die geringe Dicke der untersuchten Zellen und das daraus resultierende Auseinanderweichen (-brechen) der Spindelfasern zurückführte. Ähnliche Beobachtungen finden sich auch bei INOUE und BAJER (1961) und DIETZ (1966).
Für die in dieser Arbeit untersuchten multipolaren Teilungsfiguren ist eine Entstehung aufgrund räumlicher Begrenzung der Spindel allerdings nicht sehr wahrscheinlich, da der mitotische Zelleib in der Regel Kugelform hatte, und somit für die Bildung eines regulären Spindelapparates ausreichend Raum zur Verfügung stand.

IV.7 i) Nicht-centrioläre Spindelorganisation

Obwohl die Bedeutung der Centriolen (und des pericentriolären Materials) für Entstehung, Orientierung und Funktion der mitotischen Spindelfigur in vielen Tierspecies unumstritten ist (LUYKX, 1970), liegen doch zahlreiche Hinweise dafür vor, daß außer Centriolen und pericentriolärem Material noch andere, möglicherweise sogar diesen übergeordnete Spindelorganisatoren existieren können (DIETZ, 1959, 1966; SZOLLOSI et al., 1972; BRATEN und NORDBY, 1973; LOVLIE und BRATEN, 1970; Übersicht bei LUYKX, 1970; GRUNDMANN, 1971); die Centriolen selbst erscheinen unter diesem Gesichtswinkel häufig nur noch als für die Spindelbildung letztlich bedeutungslose Anhängsel der Spindel (DIETZ, 1966; PICKETT-HEAPS, 1969; FRIEDLÄNDER und WAHRMANN, 1970).
Die Kinetochoren sind schon lange als mikrotubuliorganisierende Zentren (MTOC) bekannt (HUGHES-SCHRADER, 1924; PEASE, 1946); dies wurde auch in jüngerer Zeit durch zahlreiche Untersuchungen immer wieder bestätigt (McGILL und BRINKLEY, 1975; SNYDER und McINTOSH, 1975; TELZER et al., 1975; ROOS, 1976; PEPPER und BRINKLEY, 1977; Übersicht bei NICKLAS, 1971). Es erscheint somit naheliegend, auch in den Kinetochoren potentielle Spindelorganisatoren zu sehen, die die Polymerisierung der Mikrotubuli-Untereinheiten initiieren und dadurch schließlich die mikrotubuläre Anheftung der Chromosomen an die Spindelpolregionen bewirken können (ROOS, 1976).
Neben centriolären Poldeterminanten und Kinetochoren werden vor allem aber auch das noch hypothetische cytoplasmatische Mikrotubuli-Leitgerüst und die Interaktion einzelner Spindelfaserkomponenten als die für die Entstehung vornehmlich b i p o l a r ausgerichteter Spindelfiguren verantwortlichen Strukturen bzw. Mechanismen in Erwägung gezogen (LUYKX, 1970). Durch das cytoplasmatische Gerüstwerk ("permanent cytoplasmic organisation" - LUYKX, 1970) wird den Mikrotubuli-Monomeren die Polymerisierung zu parallel laufenden, in eine Vorzugsrichtung gelenkten Spindelfasern ermöglicht, ohne daß für diesen Vorgang die Existenz poldeterminierender Strukturen notwendig wäre. Der gleiche Effekt wird auch dann erzielt, wenn selbst in Abwesenheit der cytoplasmatischen Gerüststrukturen die Spindelfasern durch Interaktion

der Mikrotubuli-Monomere eine parallele Orientierung erhalten. Die Spindel läßt sich nämlich, wie Temperatur- und Druckexperimente zeigen, in ihrem Verhalten mit dem einen hohen räumlichen Ordnungszustand anstrebenden, zur Selbstbildung befähigten System (self-assembly system) ähnlich dem des Tabakmosaikvirus oder des Aktins vergleichen (Übersicht bei LUYKX, 1970; MAREK, 1978). Eine spindelimmanent festgelegte Bipolarität, die andere Spindelorganisatoren wie Centriolen, Kinetochoren etc. nicht zu ihrer Entstehung benötigt, erscheint somit durchaus möglich.

Die Erkenntnisse über die unterschiedlichen, theoretisch vorstellbaren Entstehungsvorgänge mitotischer Spindelfiguren lassen es notwendig erscheinen, die in dieser Arbeit vorgelegten Befunde auch unter dem Aspekt der acentriolären, die Bipolarität bevorzugenden Spindelorganisation zu diskutieren. Hierbei soll jedoch außeracht gelassen werden, daß natürlich auch funktionelle Kombinationen von centriolären und acentriolären Spindelorganisatoren (z.B. Centriol und Kinetochor, Centriol und Mikrotubuli-Interaktion etc.) für die Bildung einer bipolaren oder multipolaren Spindel verantwortlich sein können - und es möglicherweise sogar sind (MAREK, 1978).

Für die Existenz von Spindelorganisatoren, die aufgrund eines cytoplasmatischen Gerüstwerks, einer Interaktion von Mikrotubuli-Monomeren und anderen, noch nicht näher bekannten Mechanismen zur Parallelausrichtung der Mikrotubuli und damit zur Bildung einer bipolar strukturierten Spindelfigur führen, könnten die folgenden, in mehrkernigen und polyploiden Zellen erhobenen Befunde sprechen:

1) Der Prozentsatz bipolarer Mitosen ist in polyploiden einkernigen Zellen sehr hoch (64.5 %), wobei noch leichte Differenzen zwischen der jüngeren (66.7 %) und der älteren Kultur (60.0 %) zu beobachten sind. Geht man davon aus, daß die Zahl der potentiellen Spindelpole einer Zelle ihrem Ploidiegrad proportional ist, dann fällt es schwer, in polyploiden einkernigen Zellen den hohen Prozentsatz bipolarer Mitosen mit der gleichzeitigen Existenz von jeweils mehr als zwei potentiellen Spindelpolen in Einklang

zu bringen. So erscheint z.B. in tetraploiden ein- und zweikernigen Zellen der Anteil bipolarer Mitosen (63.6 % / 50.9 %) in Relation zur Zahl der (vier) Poldeterminanten besonders hoch - bzw. der Anteil der multipolaren Mitosen besonders niedrig, wenn man voraussetzen kann, daß in der Regel fast jede Poldeterminante zur Entstehung eines Spindelpols führt.
Auch in Tochterzellen polyploider und zweikerniger Mutterzellen sind bipolare Mitosen sehr häufig zu beobachten (66.0 % / 62.5 %), obwohl auch hier die Centriolenzahl - und somit die Anzahl der Spindelpole - erhöht sein müßte (vgl. Kap. IV.7 b). In den einkernigen Tochterzellen mehrkerniger polyploider Mutterzellen sind sogar 72.5 % aller Mitosen bipolar, was bei unseren gegenwärtigen Vorstellungen von centriolären Poldeterminanten mit der Ploidiestufe und der in diesen Zellen wahrscheinlich noch zusätzlich erhöhten Centriolenzahl (Kap. IV.7 b) nur schwer zu vereinbaren sein dürfte.

2) In zweikernigen polyploiden Zellen ist der Anteil bipolarer Mitosen (33.3 %) zwar wesentlich geringer als in einkernigen polyploiden Zellen, aber trotzdem ist dieser Prozentsatz in Anbetracht der erhöhten Anzahl potentieller Spindelpole und ihrer für die Bildung eigener Polregionen äußerst günstigen relativen Lage zu den Kernen (vgl. Abb.65 d-f) als außergewöhnlich hoch einzustufen. Selbst dann, wenn zweikernige Zellen durch Fusion zweier Schwesterzellen oder durch ausbleibende Cytokinese entstanden sind, findet sich in der nachfolgenden Mitose trotzdem nicht immer die erwartete m u l t i p o l a r e Spindelfigur.

3) Eine im Prinzip bipolare Ausrichtung des Spindelapparates findet sich auch in zahlreichen polyploiden Mitosen mit mehr als zwei Spindelpolen, deren Chromosomen in einer einstrahligen, geradlinigen Metaphasenplatte angeordnet sind (einstrahlige Mitosen). Die bipolare Ausrichtung der Spindelfigur bei gleichzeitiger Multipolarität könnte damit zu erklären sein, daß ursprünglich eine Bipolarität sowohl der Metaphasenplatte (einstrahlig) als auch der Halbspindeln (eine einzige Polregion pro Halbspindel) vorhanden war, letztere jedoch dadurch verlorenging, daß z.B. wegen der räumlichen Ausdehnung der Meta-

phasenplatte oder auch wegen anderer, möglicherweise sogar centriolengesteuerter bzw. -bedingter Einflüsse die Mikrotubuli zu einer mehrpoligen Orientierung (mehrpolige Parallelmitose mit einstrahliger Metaphasenplatte) veranlaßt wurden (vgl. Abb.69).

a)

b)

Abbildung 69: Modell der Entstehung einer multipolaren (Parallel)-Mitose bei ursprünglich b i p o l a r e r Ausrichtung des Spindelapparates

a) Bipolare Ausrichtung des mitotischen Apparates: Die Mikrotubuli sind auf zwei gegenüberliegende, weit ausgezogene Polfelder gerichtet; die Konfiguration der (einstrahligen) Äquatorialplatte spiegelt diese Bipolarität wider.

b) Obwohl die bipolare Ausrichtung des mitotischen Apparates im wesentlichen erhalten bleibt, kann eine multipolare Parallelmitose entstehen, indem die Mikrotubuli eines Polfeldes (bedingt durch dessen Breite?) auf zwei Teil-Polfelder konvergieren. (Sekundärer Centrioleneinfluß?)

Das zahlenmäßige Überwiegen der ("bipolar orientierten") polyploiden einstrahligen Spindelfiguren mit zwei und mehr Polen (51.2 %) über die polyploiden zweipoligen Mitosen (41.1 %) verdeutlicht Tabelle 49.

Tabelle 49: Häufigkeiten e i n s t r a h l i g e r Mitosen mit zwei Spindelpolen (bipolar) und mit zwei und mehr Spindelpolen - aber stets geradlinig gestreckter Äquatorialplatte (bipolar orientiert).
Alle Mitosen sind polyploid.

	P o l y p l o i d e M i t o s e n		
	einstrahlig zwei Pole	einstrahlig zwei und mehr Pole	
	BIPOLAR	BIPOLAR ORIENTIERT	Gesamt
Ältere Kultur	34.1 % (14)	39.0 % (16)	n = 41
Jüngere Kultur	44.3 % (39)	56.8 % (50)	n = 88
Gesamt	41.1 % (53)	51.2 % (66)	n = 129

So bilden z.B. in der jüngeren Kultur insgesamt 56.8 % der polyploiden Mitosen einstrahlige, bipolar orientierte Spindelfiguren, tatsächlich bipolar sind jedoch nur 78.0 % hiervon (d.h. insgesamt 44.3 % a l l e r polyploiden Mitosen). Tabelle 49 zeigt, daß eine bipolare Orientierung des Spindelapparates in polyploiden Mitosen auch dann noch zu erkennen sein kann, wenn die Zahl der Pole selbst schon größer als zwei ist.
Eine bipolare Orientierung des Spindelapparates findet sich selbst in hoch-polyploiden Zellen, die häufig entweder bipolare Metaphasen oder Parallelmitosen bilden.

4) Die Zahl der Spindelpole einer Mitose nimmt nicht proportional mit dem Grad ihrer Ploidie zu (siehe Tab.8). Dies kann bedeuten, daß die Entstehung einer mitotischen Teilungsfigur einem Ordnungsprinzip unterliegt, welches selbst bei hohen Ploidiestufen die Zahl der Spindelpole möglichst nahe der bipolaren Norm zu halten versucht.

Um diese Möglichkeit weiterzuverfolgen, wurden die beobachteten Mitosen nach dem so definierten Ordnungsprinzip aufgeschlüsselt (Tab.11), wobei zwei Spindelpole als der angestrebte Idealfall und jeder zusätzliche Pol als Abweichung vom Ordnungsprinzip angesehen wurde (z.B. +I, +II, +III etc.). Tabelle 11 unterstreicht die mögliche Existenz eines die B i p o l a r i t ä t fördernden Ordnungsprinzips, indem sie zeigt, daß Abweichungen hiervon nur bis zur Stufe +IV möglich waren, und mit wachsender Abweichung vom Ordnungsprinzip die Zahl der beobachteten Mitosen kontinuierlich abnahm. Besonders häufig wurden stets diejenigen Mitosen beobachtet, deren Spindelfigur genau mit dem Ordnungsprinzip übereinstimmte (= 0).

5) Ähnliches gilt auch für das Verhältnis von Ploidie und Metaphasenfigur (Tab.13): Die Zahl der Strahlen einer Metaphasenplatte bleibt selbst bei hohen Ploidiegraden begrenzt (d.h. ein- bis vierstrahlig); die ein- und zweistrahlige, in höheren Ploidiestufen die dreistrahlige, Metaphasenplatte stellt die bevorzugte metaphasische Chromosomenkonfiguration dar.
Die Existenz eines der Spindelbildung übergeordneten Ordnungsprinzips, dessen Idealkonfiguration die bipolar orientierte, e i n s t r a h l i g e Äquatorialplatte ist, kann auch hier vermutet werden (Tab.12); bei der Interpretation von Tab.12 sollte deshalb davon ausgegangen werden, daß das Ordnungssystem bemüht ist, die Zahl der Metaphasenfigur-Strahlen möglichst gering zu halten. Dies wird auch dadurch verdeutlicht, daß einstrahlige Metaphasen häufiger als dreistrahlige und dreistrahlige häufiger als vierstrahlige gefunden wurden.
Von 71 Mitosen waren 36 drei- und 35 vier - p o l i g (das Verhältnis dreipolig : vierpolig betrug somit ungefähr 1 : 1), indes waren von insgesamt 63 Mitosen (dasselbe Kollektiv, jedoch konnten einige Mitosen nicht eindeutig identifiziert werden; sie wurden deshalb hier weggelassen: deshalb 63 statt 71 Mitosen) 53 drei - s t r a h l i g und nur 10 vier - s t r a h l i g (Verhältnis dreistrahlig : vierstrahlig 5.3 : 1). Die unterschiedlichen Verhältniszahlen (1 : 1 / 5.3 : 1) weisen hier auf den dominierenden Einfluß eines die Vielstrahligkeit der

Spindelfigur begrenzenden Ordnungssystems hin, wogegen die Multipolarität in diesem Fall (noch?) keine Präferenzen eines Trends zur Bipolarität erkennen läßt.
Vergleichbare Ergebnisse finden sich auch bei PERA und SCHWARZACHER (1969), HENEEN et al.(1970), MARTIN und SPRAGUE (1970), HENEEN (1971), PERA und RAINER (1973) und PERA (1975), die alle ein eindeutiges Überwiegen der dreistrahligen über die vierstrahligen Metaphasen feststellten.

6) In der Lebendbeobachtung konnte mehrfach die prometaphasische Umwandlung einer vielstrahligen Spindelfigur in eine Figur mit w e n i g e r Strahlen, evtl. sogar in eine einstrahlige bipolare Figur verfolgt werden (Kap. III.13 e); vergleichbare Beobachtungen finden sich auch bei FERGUSON (1901), NUR (1963), OFTEBRO und WOLF (1968), BAJER und MOLE-BAJER (1969), PERA (1970), PERA und RAINER (1973). Der umgekehrte Vorgang, die prometaphasische E r h ö h u n g der Strahlen- und Polzahl durch Bewegung der Spindelpole oder Chromosomenverschiebungen bei fixen Polen, scheint dagegen eher die Ausnahme zu sein (vgl. Kap. III.13 e1/2).
Diese Beobachtungen können so interpretiert werden, daß unter dem Einfluß eines Bipolarität und/oder Einstrahligkeit fördernden Spindelorganisators bzw. Ordnungssystems die Zahl der Pole und Strahlen bis zum Beginn der Anaphase möglichst weit reduziert, d.h. der Norm genähert wird (vgl. LUYKX, 1970).
BAJER und MOLE-BAJER (1969), die in Haemanthus-Endospermzellen die prometaphasische Umwandlung von vielpoligen Mitosen zu zweipoligen verfolgten, stellten fest, daß in diesen pflanzlichen Zellen die Umgruppierungsvorgänge ihre Ursache im Verhalten der Mikrotubuli hatten. Denn wie elektronenmikroskopische Untersuchungen dieser Zellen zeigten, waren die Mikrotubuli zu Beginn der Mitose ungeordnet ohne Vorzugsrichtung ausgerichtet, um dann im weiteren Verlauf der Prometaphase mehr und mehr parallel angeordnet zu werden - bis schließlich die Spindel ihre bipolare Orientierung erhalten hatte.

Bei allen oben erwähnten Untersuchungen bipolarer und multipolarer Mitosen fiel auf, daß der hypothetische, Bipolarität und/oder Einstrahligkeit fördernde Ordnungsmechanismus, dem hier die Funktion eines Spindelorganisators zukommt, in zweikernigen Zellen schwächer ausgeprägt war als in einkernigen Zellen; ebenso war sein Einfluß in Zellen der älteren, aneuploiden Kultur in weit geringerem Maße zu bemerken als in Zellen der jüngeren Kultur. Folge dieser Einschränkung war eine erhöhte Rate multipolarer Mitosen.
Unter der Voraussetzung eines acentriolären Ordnungsmechanismus als Spindelorganisator läßt sich die Entstehung multipolarer Mitosen nun damit erklären, daß in den älteren, aneuploiden Zellen evtl. aufgrund einer erhöhten Zellentartung die volle Funktionsfähigkeit dieses Mechanismus eingeschränkt bzw. aufgehoben worden war, wogegen sie in den Zellen der jüngeren Kultur nicht so stark beeinträchtigt war. Die Folge waren dort multipolare, hier bipolare Spindelfiguren.
In polyploiden und mehrkernigen Zellen kam es möglicherweise aufgrund der Ploidie- und Kernzahl zur Interferenz mehrerer (kinetochor-, cytoplasma- oder mikrotubuligesteuerter) Ordnungssysteme, was entweder zur Störung des Mitosegeschehens oder zur Entstehung unabhängiger Spindelfiguren in einem Cytoplasma führen konnte, so wie es sich wohl als Extremfall in den selten beobachteten, übereinanderliegenden bipolaren Figuren (Etagenmitosen) zeigte. In der Regel jedoch wurden die Chromosomen trotz unabhängig voneinander orientierter Spindelvorzugsrichtungen in einer gemeinsamen Metaphasenplatte angeordnet; hieraus resultierten dann mehrstrahlige und mehrpolige Mitosen (d.h. mehrere Mitosen in einer einzigen Figur, so wie OHNO (1966) das Prinzip der multipolaren Mitose charakterisierte).
Sofern ihre Erörterung im Rahmen der gegenwärtig diskutierten Modelle der Spindelbildung erfolgte, gestatten die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse keine eindeutigen Aussagen über den Entstehungsmechanismus multipolarer Mitosen; tatsächlich lassen sich bei der Auswertung der Befunde sowohl Widersprüche als auch Übereinstimmungen mit wesentlichen Punkten jedes Modells fest-

stellen. Bis zur endgültigen Klärung des Entstehungsmechanismus mitotischer Spindelfiguren und insbesondere multipolarer Mitosen werden noch zahlreiche detaillierte Untersuchungen notwendig sein.

Aufgrund der vorgelegten, je nach Modell unterschiedlich interpretierten Ergebnisse läßt sich jedoch feststellen, daß multipolare Spindelfiguren mit großer Wahrscheinlichkeit nicht allein durch die in polyploiden Zellen erhöhte Centriolenzahl bedingt sind, wie dies bisher immer wieder vermutet wurde. Vielmehr sollte in Erwägung gezogen werden, daß der tatsächliche Entstehungsmechanismus (mehrpoliger) Spindelfiguren möglicherweise aus einer Kombination verschiedener, jeweils gesondert diskutierter Modelle besteht, wie sie z.B. in einem kombinierten Centriolen-Kinetochoren / Ordnungsprinzip - Modell zu sehen wäre.
Besondere Beachtung sollte in diesem Zusammenhang auch der Beobachtung geschenkt werden, daß in sämtlichen Zellkollektiven der "entarteten" aneuploiden Kultur der Prozentsatz multipolarer Mitosen wesentlich höher war als in den entsprechenden Kollektiven der jüngeren Zellkultur. Das Zusammentreffen von Zellentartung und erhöhter multipolarer Mitoserate, wie es vor allem in Krebszellen, aber auch in älteren Zellinien zu beobachten ist, mag in der Zukunft zum Ausgangspunkt für genauere Einblicke in den Entstehungsvorgang (multipolarer) mitotischer Spindelfiguren werden. Es erscheint somit denkbar, daß die multipolare Mitose aufgrund ihrer spezifischen Eigenarten ein für die Erforschung mitotischer Spindelorganisatoren günstiges Objekt darstellt.

IV.8. Effekte der multipolaren Mitose

Die exakte Längsteilung der Chromosomen in zwei Chromatiden und die präzise Verteilung der beiden Schwesterchromatiden auf je einen Pol einer bipolaren Mitose sind Voraussetzung für die Entstehung von Tochterkernen, die sich genetisch quantitativ und qualitativ vollkommen gleichen. Dieses Prinzip nannte BOVERI (1888) den "Dualismus der Kernteilungsphänomene".
Auch in drei- und mehrpoligen Mitosen werden die Schwesterchromatiden in der Anaphase voneinander getrennt und auf je einen Spindelpol verteilt (PERA und SCHWARZACHER, 1969; PERA, 1970). Die Tochterkerne erhalten im Regelfall jedoch weniger Chromosomen bzw. vollständige Chromosomensätze als im Mutterkern vorhanden waren (Somatische Reduktion), da die Zahl der Pole - und somit die Zahl der späteren Tochterkerne - in multipolaren Mitosen stets größer ist als die Zahl der Chromatiden eines Chromosoms.
Durch die für mehrstrahlige und mehrpolige Teilungsfiguren charakteristische Anordnung der Metaphasechromosomen bedingt (vgl. Abb.70, 73-75), können in der Mitose vollständige Chromosomensätze, möglicherweise auch einzelne Chromosomen (vgl. Abb.77), gegeneinander ausgetauscht, d.h. neu kombiniert werden. Trotz zahlenmäßiger Gleichheit unterscheiden sich die Tochterkerne in diesem Fall aufgrund des asymmetrischen mitotischen Verteilungsvorgangs in der Zusammensetzung ihrer Chromosomensätze (Somatische Segregation).
Diese beiden Effekte der multipolaren Mitose, die Reduzierung der Chromosomenzahl (Somatische Reduktion) und die Erzeugung von genetisch ungleichwertigen Tochterkernen (Somatische Segregation) werden im folgenden genauer erörtert.

IV.9. Methode der Ploidiebestimmung

Die Ploidie der Tochterzellen bi- und multipolarer Mitosen kann durch Chromosomenzählung eindeutig ermittelt werden. Jedoch ist diese Methode der Ploidiebestimmung nur in wenigen Fällen durch-

führbar, da einerseits die Chromosomen mehrpoliger Mitosefiguren in sämtlichen Mitosestadien für eine genaue Zählung zu nahe nebeneinander liegen können, und andererseits auch bei exakt voneinander abgrenzbaren Metaphasechromosomen der Tochterzellen multipolarer Mitosen eine sichere Zuordnung zu den Polen der vorhergehenden Teilungsfigur nicht immer mehr möglich ist: In Präparationen von Metaphasechromosomen beispielsweise lassen sich haploide und triploide Metaphasen zwar als Tochterchromosomen multipolarer Mitosen identifizieren, eine definitive Aussage über die Herkunft diploider oder tetraploider Metaphasen jedoch ist hier nicht mehr möglich (PERA und RAINER, 1973; RIZZONI et al., 1974).

Auch Lebendbeobachtungen der Tochterzellen multipolarer Mitosen erlauben, wenn überhaupt, nur in Ausnahmefällen eine Zählung der Metaphasechromosomen sämtlicher Tochterkerne. Obwohl hier die Herkunft der Zellen durch die Lebendbeobachtung eindeutig gesichert ist, wird die für die Zählung notwendige Präparation der Metaphasechromosomen durch die unterschiedlich langen Zellzyklen der einzelnen Tochterkerne hinfällig, so daß zwar die Chromosomen einzelner, aber nur äußerst selten die Chromosomen sämtlicher Tochterkerne ausgezählt werden können.

In Zellkernen von Microtus agrestis läßt sich die Ploidie leicht durch Nachweis der zum größten Teil aus konstitutivem Heterochromatin bestehenden Geschlechtschromosomen bestimmen, da die Zahl der Geschlechtschromosomen der Ploidie des Kerns proportional ist (PERA, 1970). Die Darstellung des konstitutiven Heterochromatins kann außerdem durch Markierung mit ^{3}H-Thymidin (WOLF et al., 1965; SCHMID et al., 1965; PERA und WOLF, 1967) oder durch Färbung der C-Banden (ARRIGHI und HSU, 1971; YUNIS et al., 1971) erfolgen. Die Geschlechtschromosomen sind zudem an ihrer späten Chromatidentrennung in der Anaphase (SCHMID, 1967) und an ihrem heteropyknotischen Verhalten während der Interphase erkennbar: So finden sich in Interphasekernen bestimmter Gewebe der Erdmaus die Geschlechtschromosomen in Form von gut färbbaren Chromozentren (SCHMID et al., 1965); auch während der Prophase und Rekonstruktionsphase sind die Geschlechtschromosomen

stärker spiralisiert als die Autosomen (SCHMID et al., 1965; PERA und WOLF, 1967; PERA, 1972 b).

In der G_1-Phase des Zellzyklus kann die Ploidie von Tochterkernen bi- und multipolarer Mitosen durch cytophotometrische Messung ihres relativen DNS-Gehalts bestimmt werden; hierbei dient ein aus den Absorptionswerten diploider G_1-Phasen-Kerne (relativer DNS-Gehalt 2c) und diploider Prophasekerne (relativer DNS-Gehalt 4c) errechneter mittlerer Absorptionswert für den haploiden Chromosomensatz (relativer DNS-Gehalt 1c) als Referenzwert. Die Methode der cytophotometrischen Ploidiebestimmung beruht auf der Annahme, daß eine feste Korrelation zwischen dem quantitativ ermittelten Gesamt-DNS-Wert eines Zellkerns und einer quantitativ stets konstanten Chromosomenzusammensetzung in Form eines vollständigen haploiden Satzes oder ganzzahliger Vielfacher davon besteht (MITTWOCH, 1969; PEARSE, 1968). PALITTI und RIZZONI (1972) weisen darauf hin, daß eine nach dem Zufallsprinzip erfolgende ungeordnete Chromosomenaufteilung in Kombination mit einer scheinbar geordneten Aufteilung des Gesamt-DNS-Materials auf die Tochterkerne multipolarer Mitosen unwahrscheinlich ist. PERA und RAINER (1973) und RIZZONI et al.(1974) konnten durch Chromosomenzählung in den Tochterkernen multipolarer Mitosen nachweisen, daß durch multipolare Mitosen die Chromosomen jeweils in haploiden Sätzen bzw. ganzzahligen Vielfachen davon auf die Tochterkerne verteilt werden. Diese Ergebnisse wurden durch weitere Ploidiebestimmungsmethoden bestätigt (PERA, 1970). Es erscheint daher gerechtfertigt, in einer euploiden Kultur die in der G_1-Phase durchgeführte cytophotometrische Ploidiebestimmung als signifikante Methode anzuerkennen (PERA und SCHWARZACHER, 1969; PERA, 1970; PALITTI und RIZZONI, 1972; BOSMAN et al., 1979).

In aneuploiden Zellkulturen ist die cytophotometrische Methode dagegen nur bedingt verwendbar: Die exakte Ermittlung eines Absorptions-Referenzwertes für den vollständigen haploiden Chromosomensatz wird allein dadurch unmöglich, daß die Chromosomenzahl des ursprünglich haploiden Satzes in aneuploiden

Kulturen je nach Zelle und Kulturalter starken Schwankungen unterliegt (FIRSCHING, 1976). Somit können auch die in dieser Arbeit cytophotometrisch ermittelten Befunde über die Chromosomenverteilung durch multipolare Mitosen nur im Fall der euploiden Kultur eindeutig ausgewertet werden, (jedoch fanden BOSMAN et al. (1979), daß in einer heteroploiden menschlichen Tumor-Zellinie durchaus ein lineares Verhältnis zwischen Zahl der Chromosomen und DNS-Gehalt der cytophotometrisch untersuchten Zellen bestehen kann). Im Fall der älteren, aneuploiden Kultur kann sich der sogenannte 1c-Wert nicht auf einen vollständigen haploiden Chromosomensatz beziehen, sondern nur auf einen statistisch ermittelten Absorptions-Durchschnittswert für eine Chromosomengruppe, die dem in seiner Chromosomenzusammensetzung zahlenmäßig veränderten haploiden Satz entsprechen soll. Es erscheint somit berechtigt, die große Variabilität der Daten der Chromosomenverteilung durch multipolare Mitosen in der aneuploiden Kultur (Tab.39 a/b, 40 a/b) unter zwei verschiedenen Gesichtspunkten zu interpretieren:

1) Der in der aneuploiden Kultur errechnete sogenannte 1c-Wert entspricht einem in seiner Chromosomenzusammensetzung zahlenmäßig veränderten, ursprünglich haploiden Chromosomensatz. Ebenso wie der vollständige Chromosomensatz in einer euploiden Kultur stellt auch diese Chromosomengruppe eine funktionelle E i n h e i t dar, deren Zusammensetzung (d.h. Zahl der Chromosomen) in der Regel von Zellteilung zu Zellteilung unverändert bleibt. Es ist jedoch auch denkbar, daß hier der Zusammenhalt der Chromosomen etwas schwächer ausgeprägt ist als in euploiden Chromosomensätzen, so daß ein höherer Prozentsatz mitotischer Fehlverteilungen resultieren kann.
ATKIN et al.(1966) und KRAEMER et al.(1972) weisen darauf hin, daß in aneuploiden Zellinien der DNS-Gehalt des Chromosoms möglicherweise infolge dichterer Packung des Chromatins erhöht sein kann; die gleichen Beobachtungen machten auch BOSMAN et al. (1979). Es ist somit durchaus möglich, daß bei einem exakt haploiden rel. DNS-Wert die Zahl der Chromosomen keineswegs mehr genau der haploiden Grundzahl entspricht. Diese Befunde schließen

jedoch nicht aus, daß die Chromosomen eines 'haploiden' Satzes zu der oben erörterten funktionellen Chromosomensatz-Einheit zusammengefaßt sein können.
2) Der in der aneuploiden Kultur errechnete 1c-Wert entspricht einer rein quantitativen Angabe des DNS-Gehalts ohne erwiesene Beziehung zu einer bestimmten konstanten Chromosomenkonstellation (vgl. KRAEMER et al., 1971, 1972; DEAVEN und PETERSEN, 1974); die Verteilung der Chromosomen multipolarer Mitosen erfolgt völlig willkürlich und vor allem losgelöst aus dem ehemals haploiden Zusammenhalt. In diesem Fall sagt der relative DNS-Gehalt nichts über die wirkliche Aufteilung der Chromosomen multipolarer Mitosen (in Form ganzzahliger Vielfacher eines haploiden Satzes) aus. Eine Interpretation der Messdaten in dieser Richtung wäre folglich rein spekulativ.

Zur exakten Ploidiebestimmung von Tochterkernen multipolarer Mitosen werden nicht selten zwei Methoden kombiniert, z.B. die cytophotometrische Messung des relativen DNS-Gehalts zusammen mit der Auszählung der Chromozentren (PERA und SCHWARZACHER, 1969; PERA, 1970). Da in dieser Arbeit aufgrund der Lebendbeobachtung die Herkunft von Tochterzellen multipolarer Mitosen bekannt war, und die Methode der cytophotometrischen Ploidiebestimmung sich als signifikant erwiesen hatte (PERA und SCHWARZACHER, 1969; PERA. 1970; PALITTI und RIZZONI, 1972; PERA und RAINER, 1973), konnte auf eine Kombination der DNS-Messung mit Methoden des Heterochromatinnachweises verzichtet werden.

IV.10. Somatische Reduktion durch multipolare Mitosen

Aus den in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnissen (Kap.III.22.) geht hervor, daß insgesamt 88.1 % der Tochterkerne multipolarer Mitosen eine g e r i n g e r e Ploidiestufe haben als ihre Mutterzelle; nur in 0.7 % aller ausgewerteten Tochterkerne übertrifft die ermittelte Ploidiestufe die der Mutterzelle. In 11.2 % stimmen Ploidie von Mutterzelle und Tochterkern überein. Damit erweist sich die multipolare Mitose als ein Regulationsmechanismus, der es einer polyploiden (und in Ausnahmefällen auch einer diploiden) Zelle ermöglicht, ihre ursprüngliche, durch

Zellfusion, ausbleibende Cytokinese etc. veränderte Ploidiestufe wiederzuerlangen. Wie aus den Langzeitbeobachtungen zudem hervorgeht, kann die somatische Reduktion durch multipolare Mitosen in einem Schritt, zum Teil aber auch in mehreren Schritten durch aufeinanderfolgende mehrpolige Zellteilungen bis zur diploiden Stufe erfolgen.
Die erfolgte Reduktion des Ploidiegrades einer Zelle wird teilweise jedoch dadurch "maskiert", daß in der frühen Telophase zwei, teilweise auch mehrere Schwesterchromosomengruppen (Telophasenteile) zu einem einzigen Zellkern verschmelzen, dessen Ploidie nicht selten die Ploidie der Mutterzelle übersteigt.
Ein ähnlicher "Maskierungseffekt" der somatischen Reduktion durch multipolare Mitosen entsteht durch die Fusion von Schwesterzellen in der frühen Interphase oder dadurch, daß mehrere Schwesterkerne von der Telophase an in einem gemeinsamen Cytoplasma liegenbleiben; die Gesamt-Ploidie dieser mehrkernigen Zelle kann dann größer als die der Mutterzelle sein.
Diese Mechanismen bewirken, daß nur in 63.3 % aller Tochterz e l l e n multipolarer Mitosen eine tatsächliche Reduktion der Mutterzellploidie festgestellt werden konnte. Wie die Beobachtungen weiterhin ergaben, kann der somatische Reduktionsvorgang nicht nur bis zur diploiden, sondern in wenigen Fällen sogar bis zur haploiden Ploidiestufe eines Tochterkerns führen; haploide Tochterkerne multipolarer Mitosen liegen jedoch in der Regel in mehrkernigen Cytoplasmen.
Im Gegensatz zu den Untersuchungen von PERA (1975) und BRENNER et al.(1977) konnten in den beobachteten Fibroblastenmitosen keine aus zwei weit voneinander getrennten Metaphasenplatten bestehenden Spindelfiguren nachgewiesen werden (die in Kap.III.13c beschriebene two-group metaphase stellt eine Ausnahme dar); aufgrund der Beobachtungen sind die aus zwei eng übereinanderliegenden bipolaren Spindelfiguren bestehenden Etagenmitosen weniger als zwei getrennte Mitosefiguren sondern vielmehr als Variante einer vierpoligen vierstrahligen Metaphase zu werten.
Die von BRENNER et al.(1977) in Zellen vom Rattenkänguruh beschriebenen Reduktionsteilungen (Abb.63b) laufen in zwei auf-

einanderfolgenden Schritten ab: Zuerst werden die Genome einer tetraploiden Zelle in zwei (diploide) Gruppen gesondert; anschließend bildet jede diploide Chromosomengruppe eine eigene bipolare Spindelfigur. Für vergleichbare somatische Reduktionsteilungen in zwei Mitoseschritten ("two-step reduction division" - BRENNER et al., 1977) fanden sich in den beobachteten Lungenfibroblasten keine eindeutigen Hinweise (vgl. dagegen PERA, 1975), vielmehr laufen hier Reduktionsteilungen in einem einzigen Schritt ab: Die Chromosomen werden sofort in eine einzige mehrpolige Spindelfigur eingeordnet, wobei Umgruppierungsvorgänge der Chromosomen nicht selten sind; die Anaphase schließt sich an.

In der euploiden Kultur wurden die Chromosomen bi- und multipolarer Mitosen in der Regel nach vollständigen haploiden Sätzen oder ganzzahligen Vielfachen davon geordnet auf die Tochterkerne verteilt. Diese Aussage stützt sich allein auf die cytophotometrische Messung der Tochterkerne nach vorhergegangener Lebendbeobachtung der Mitose. Eine exakte Chromosomenzählung war in den Tochterkernen multipolarer Mitosen nicht möglich. Die Untersuchungen von PERA und RAINER (1973) und RIZZONI et al. (1974) bestätigen jedoch die Aussagekraft dieser Methode. Aus den Befunden geht hervor, daß in der euploiden Kultur nur 5.5 % der beobachteten Mitosen zu einer nicht nach vollständigen haploiden Chromosomensätzen geordneten Verteilung der genetischen Substanz führen. Diese Mitosen mit ungeordneter Verteilung stellen zudem noch eine Besonderheit dar, da die Störung des geordneten Verteilungsmechanismus in den meisten Fällen auf nur eine Seite bzw. Polregion der mehrstrahligen und mehrpoligen Metaphasenfigur beschränkt zu sein scheint (siehe Kap.III.24.). Es erscheint möglich, daß es sich hierbei um eine künstlich hervorgerufene Störung des Spindelapparates handelt. Durch zu intensive Belichtung während der Lebendbeobachtung werden wahrscheinlich direkt oder indirekt durch lichtbedingte Temperaturerhöhung die Mikrotubuli einzelner oder aller Halbspindeln des mitotischen Apparates geschädigt; die Temperaturempfindlichkeit des Spindelapparates während seiner Entstehung konnte schon wiederholt nachgewiesen werden (FUSELER, 1975; INOUE et al., 1975).

Andererseits sollte jedoch auch daran gedacht werden, daß es sich bei der 'begrenzten Fehlverteilung' möglicherweise um die Störung eines anderen, viel feineren Regulationsmechanismus der Chromosomenverteilung handelt, dessen Natur noch nicht bekannt ist (vgl. Kap.IV.7i).

Die in dieser Arbeit ermittelten Verteilungsmodi des genetischen Materials multipolarer Mitosen lassen einen großen Variantenreichtum erkennen (Tab.39-41, 43, 44); auffällig ist, daß die Mehrzahl der Verteilungsmodi jeweils nur ein einziges Mal beobachtet werden konnte. Dies ist bei der großen Zahl von Beobachtungen schwer zu erklären.

Zum Vergleich (mit Tabelle 44) sind die von PERA und SCHWARZACHER (1969), PERA (1970), PALITTI und RIZZONI (1972), PERA und RAINER (1973) und RAINER (1975) ermittelten Verteilungsmodi in Tabelle 50 aufgeführt.

Der von PERA und SCHWARZACHER (1969), PALITTI und RIZZONI (1972) und PERA und RAINER (1973) beobachtete bevorzugte Verteilungsmodus des genetischen Materials multipolarer Mitosen hatte das Ploidieverhältnis 3c : 2c : 3c. In den in dieser Arbeit untersuchten Mitosen euploider und aneuploider Fibroblasten findet sich dieses Verteilungsverhältnis allerdings nicht sehr häufig, was nur zum Teil mit der Tatsache erklärt werden kann, daß die oben erwähnten Autoren hauptsächlich tetraploide Zellen untersuchten, in der vorliegenden Arbeit aber auch sehr viele Zellen anderer Ploidiestufen beobachtet wurden. Auch andere eindeutige Verteilungspräferenzen sind nicht festzustellen, obwohl in jeder Ploidiestufe einige Verteilungsmodi häufiger als andere anzutreffen sind (Tab.44). Die von PALITTI und RIZZONI (1972) getroffene Schlußfolgerung, jede Ploidieklasse habe ihren bevorzugten Verteilungsmodus, kann für die untersuchten Fibroblastenkulturen deshalb nicht aufrecht erhalten werden. Es scheint vielmehr so zu sein, daß die Verteilungsmodi eher nach den Gesetzen des Zufalls als nach festen Regeln bestimmt werden. Jedoch erlaubt die relativ kleine Zahl von Beobachtungen in dieser Hinsicht keine verbindlichen Aussagen.

Tabelle 50: Übersicht über die unterschiedlichen, in der Literatur beschriebenen Verteilungsmodi des genetischen Materials (gemessen als relativer DNS-Gehalt) auf die Tochterkerne multipolarer Mitosen in jungen bzw. euploiden Zellkulturen
(* hier wurden auch drei Mitosen mit ungeordneter Verteilung gefunden)

PLOIDIE	PERA und SCHWARZACHER (1969)	PERA (1970)	PALITTI und RIZZONI (1972)	PERA und RAINER (1973)	RAINER (1975)
2 n	2:1:1 (2)	1:2:1	1:2:1 * (2)	1:2:1 (6)	-
3 n	-	-	2:2:2 (6)	2:2:2 (8)	-
	-	-	3:2:1 (1)	-	-
4 n	4:3:1 (2)	4:4	3:2:3 (14)	4:3:1 (13)	3:2:3 (2)
	3:2:3 (6)	1:3:4	4:2:2 (3)	4:2:2 (2)	4:2:2 (2)
	-	3:2:3	2:2:2:2 (1)	3:2:3 (33)	4:3:1 (1)
	-	2:4:2	-	4:2:1:1 (1)	-
	-	2:2:2:2	-	2:2:2:2 (1)	-
6 n	-	-	4:3:3:2 (1)	-	-
8 n	-	-	8:4:4 (1)	6:4:4:2 (1)	8:4:2:2 (1)

ZELLEN:	Nierenepithel M. agrestis	Nierenepithel M. agrestis	Nierenepithel Rhesusaffe	Nierenepithel und Lungenfibroblasten, M. agrestis	
FÄRBUNG:	Feulgen	Feulgen	Feulgen	Feulgen	Feulgen
METHODE:	Lebendbeobachtung	Lebendbeob. + Ana-Telophasen	Ana-Telophasen	Lebendbeob. + Ana-Telophasen (Restitutionskerne)	Ana-Telophasen

Da in der S-Phase das genetische Material verdoppelt wird, muß die Summe aller Tochterkern-Ploidien genau das Zweifache der Mutterkernploidie betragen. Die in der frühen G_1-Phase bestimmten Ploidiestufen der Tochterkerne einer dreikernigen Zelle der aneuploiden Kultur betrugen jedoch 4c : 3c : 4c (Summe: 11c); danach hätte die Mutterzelle 5.5-ploid sein müssen. PERA und SCHWARZACHER (1969) fanden Ähnliches: Hier betrug der DNS-Gehalt nebeneinanderliegender Kerne 2c : 2c : 1c bzw. 4c : 3c : 4c. Diese Befunde wurden dahingehend gedeutet, daß die drei Telophasenkerne doch nicht von einer gemeinsamen dreipoligen Metaphasenfigur stammten sondern nur zufällig nebeneinander lägen, was z.B. durch Zellfusion von Zellen unterschiedlicher Ploidie zu erklären ist. Diese Möglichkeit kann jedoch für die beobachtete dreikernige Zelle (Tab.1: Nr.50) ausgeschlossen werden, da die ununterbrochene Lebendbeobachtung eine eindeutige Zuordnung der Tochterkerne zu einer gemeinsamen Spindelfigur erlaubte. Es scheint jedoch möglich zu sein, daß sich zum Zeitpunkt der Fixierung (ca. 80 min. nach der Anaphase) schon Tochterkerne in der S-Phase befanden, während die restlichen Kerne noch die G_1-Phase durchliefen und noch keine DNS synthetisieren konnten. So fanden PERA und SCHWARZACHER (1969), daß in Fällen, in denen der Gesamt-DNS-Gehalt tripolarer Mitosen abweichend von 4c oder 8c war, die Autoradiographie eine ungleiche Markierung der Tochterchromosomengruppen ergab.
Näher liegt indes die Erklärung, daß es sich bei der dreikernigen Zelle (aus der aneuploiden Kultur) möglicherweise um eine stark aneuploide Zelle gehandelt hat, deren Tochterkerne - bedingt durch die Methodik der cytophotometrischen Ploidiebestimmung - trotz ihrer ausgeprägten Aneuploidie als "euploid" klassifiziert werden konnten.
Dieses Problem offenbart die Schwächen der cytophotometrischen Ploidiebestimmung in einer aneuploiden Kultur. Obwohl hier (in der aneuploiden Kultur) in der Mehrzahl der bi- und multipolaren Mitosen eine ungeordnete und in weit weniger Mitosen eine scheinbar nach vollständigen Chromosomensätzen geordnete Verteilung der Chromosomen cytophotometrisch ermittelt wurde, sollten diese Werte doch nicht kritiklos akzeptiert werden:

Der für die Auswertung der Meßergebnisse notwendige Referenzwert basiert selbst auf Messungen aneuploider Zellen; er wird deshalb wohl nur sehr selten einem vollständigen haploiden Chromosomensatz entsprechen können. Viel eher ließe sich vorstellen, daß hier der Referenzwert nur die Reste eines ehemals vollständigen Chromosomensatzes erfaßt (bzw. einen um einige Chromosomen erweiterten haploiden Satz). Die Aussage, daß in der aneuploiden Kultur 43.2 % der Mitosen zu einer nach vollständigen Chromosomensätzen geordneten und 56.8 % zu einer ungeordneten Verteilung führen, soll deshalb modifiziert werden: In 43.2 % der bi- und multipolaren Mitosen der aneuploiden Kultur läßt sich der relative DNS-Gehalt der Tochterkerne in ganzzahligen Vielfachen des Referenzwertes ausdrücken. Da die exakte Chromosomenzusammensetzung der zur Bestimmung des Referenzwertes gemessenen Zellkerne nicht bekannt ist - evtl. sogar großen Schwankungen unterliegt - kann nicht ausgeschlossen werden, daß in einer aneuploiden Kultur alle Mitosen zu einer ungeordneten Verteilung führen. Andererseits ist aber auch die Existenz einer Ordnungskraft ("suprachromosomal organization of the genome" - RIZZONI et al., 1974) nicht auszuschließen, die selbst in aneuploiden Kulturen noch bewirkt, daß die Reste einst vollständiger haploider Sätze als funktionelle Einheiten auf die Tochterkerne verteilt werden, ohne daß hierbei die Chromosomenzahl durch Verlust oder Gewinn einzelner Chromosomen verändert würde.

Der Vergleich der Chromosomenverteilung durch bipolare und multipolare Mitosen in einer aneuploiden und in einer euploiden Kultur ergibt, daß in der euploiden Kultur die Chromosomen nach vollständigen haploiden Sätzen geordnet auf die Pole der Spindelfigur verteilt werden. In der aneuploiden Kultur erscheint der Mechanismus einer geordneten Verteilung ungewiß; mit Sicherheit ist jedoch der Prozentsatz der durch eine mögliche "geordnete Verteilung" entstandenen 'euploiden' Tochterkerne hier weit geringer als in der euploiden Kultur. PALITTI und RIZZONI (1972) fanden, daß in einer aneuploiden Kultur in vitro - ganz im Gegensatz zu einer euploiden Kultur - der Mechanismus des nach vollständigen haploiden Chromosomensätzen geordneten Verteilungs-

vorganges nicht mehr existiert; diese Möglichkeit sollte auch für die untersuchten Kulturen der Erdmaus in Betracht gezogen werden.

IV.11. Somatische Segregation durch multipolare Mitosen

Die genetische Ungleichwertigkeit der Tochterkerne mehrpoliger Spindelfiguren wurde schon von BOVERI (1888), WILSON (1925) und POLITZER (1934) diskutiert; die ersten direkten Hinweise auf eine nach vollständigen Chromosomensätzen geordnete somatische Segregation der Chromosomen polyploider Zellen durch multipolare Mitosen erbrachten jedoch erst die Untersuchungen von STONE et al.(1964) und OHNO et al.(1965). OHNO (1966), SINHA (1967), TEPLITZ et al.(1968), MARTIN und SPRAGUE (1969), PERA (1970), PERA und RAINER (1974) und PERA und SCHOLZ (1974) konnten das Prinzip der somatischen Segregation durch multipolare Mitosen bestätigen, so daß heute die multipolare Mitose generell als verantwortlich für die Entstehung genetisch ungleichwertiger Tochterkerne angesehen werden kann.
Da in der vorliegenden Arbeit auf eine Bestimmung der Chromosomenzusammensetzung von Tochterkernen mehrpoliger Spindelfiguren verzichtet wurde, konnten keine direkten Befunde bezüglich der somatischen Segregation durch multipolare Mitosen gewonnen werden. Die somatische Segregation steht jedoch in enger Beziehung zur somatischen Reduktion und möglicherweise auch zur Lebensfähigkeit der Tochterzellen multipolarer Mitosen. Auf eine Erörterung des Prinzips der somatischen Segregation soll hier deshalb nicht verzichtet werden.

Aus der synchronen Mitose mehrkerniger, durch Fusion von Zellen verschiedener Tierspecies entstandener Zellen (Heterokaryen) können einkernige Tochterzellen mit den Genomen beider Elternspecies hervorgehen (EPHRUSSI, 1972; RINGERTZ und SAVAGE, 1975). TEPLITZ et al.(1968) beobachteten in zweikernigen (tetraploiden) Heterokaryen vom Nerz (Mustela vision) und vom Rind (Bos taurus) häufig mehrpolige Mitosen. Nach einiger Zeit fanden sich in den beobachteten Zellkulturen nur noch diploide einkernige Zellen, die je einen Chromosomensatz vom Rind und vom Nerz aufwiesen. Für den hier er-

folgten somatischen Reduktions- und Segregationsvorgang kommen nach TEPLITZ et al.(1968) nur mehrpolige Mitosen in Frage. Die für eine derart beschaffene somatische Segregation notwendige Anordnung der Chromosomen in der mehrpoligen Metaphasenfigur zeigt die Abbildung 70. Die Chromosomen repräsentieren hier Homologe bzw. vollständige haploide Sätze. In der nachfolgenden Anaphase werden jeweils vollständige haploide Sätze in Richtung der Spindelpole bewegt.

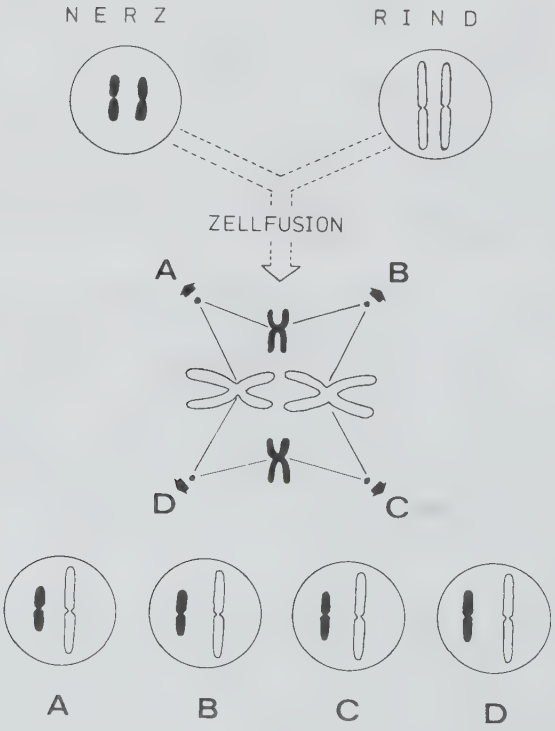


Abbildung 70: Somatische Segregation durch vierpolige Mitose tetraploider, zweikerniger Heterokaryen.
Gezeichnet nach Befunden von TEPLITZ et al.(1968); Erläuterungen siehe Text.

Die genaue Lage der einzelnen Chromosomen in mehrstrahligen Metaphasen polyploider Zellen ist nicht bekannt. Autoradiographische Untersuchungen multipolarer Mitosen zweikerniger Zellen zeigen, daß sich in der Regel die Chromosomensätze beider Zellkerne in der gemeinsamen Metaphasenplatte nicht miteinander vermischen (HENEEN, 1971; PERA und RAINER, 1974) sondern vielmehr als in sich geschlossene Gruppierungen festumschriebene Positionen innehaben (Abb.71, 72).

Abbildung 71: Dreistrahlige Metaphasenfigur einer zweikernigen Zelle; ein Zellkern radioaktiv markiert (schraffierte Hälfte).
Schematisch gezeichnet nach einer autoradiographischen Aufnahme von PERA und RAINER (1974).

In vierpoligen vierstrahligen Mitosen zweikerniger Zellen konnte HENEEN (1971) feststellen, daß die Chromosomen eines jeden Zellkerns in der Mehrzahl der Fälle auf zwei benachbarten Strahlen der vierstrahligen Metaphasenfigur lagen, so daß Tochterkerne mit unterschiedlicher, durch die Mitose neukombinierter Chromosomenzusammensetzung entstanden: Zwei Tochterkerne entsprachen in ihrer Chromosomenzusammensetzung den Elternkernen; die beiden anderen Tochterkerne waren Rekombinanten mit Chromosomen aus beiden Elternkernen (Abb.72). Aus den Markierungsmustern der Rekombinanten geht nach HENEEN (1971) weiter hervor, daß die Chromosomen

im Zeitraum Anaphase - Interphase ihre Position in Relation zueinander nicht verändern.

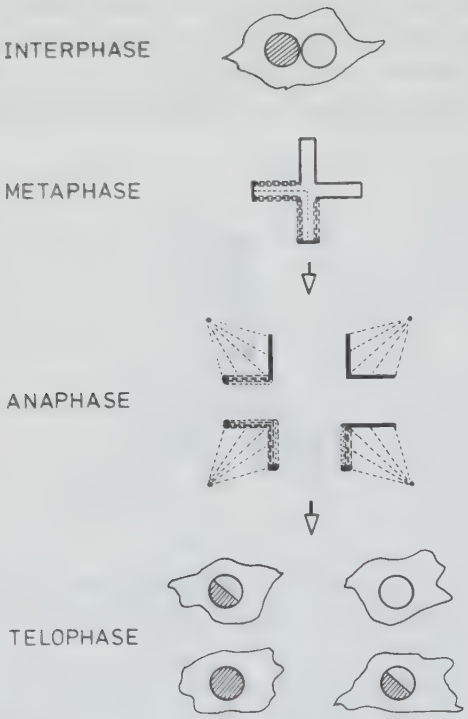


Abbildung 72: Somatische Reduktionsteilung durch eine vierstrahlige vierpolige Mitose.
Modifiziert nach einer Zeichnung von HENEEN (1971).
Punktierung und Schraffierung kennzeichnen radioaktiv markierte Bezirke. Weitere Erläuterungen siehe Text.

Die genaue Anordnung der Chromosomen in mehrpoligen Spindelfiguren kann nur indirekt durch Auswertung der Metaphasechromosomen von Tochterkernen ermittelt werden. In einigen Fällen ist es jedoch

auch möglich, aus Lage und Verhalten der Geschlechtschromosomen während der Anaphase und Telophase auf die Position der Autosomen zu schließen (PERA, 1970). Da auch in multipolaren und mehrstrahligen Mitosen die Chromosomen in zwei Chromatiden aufgeteilt und keinesfalls ungeteilte Chromosomen auf die Spindelpole verteilt werden (PERA, 1970; PERA und RAINER, 1974), bieten sich verschiedene mögliche Varianten der für die somatische Segregation notwendigen Chromosomenanordnung in mehrstrahligen und mehrpoligen Metaphasen (Abb.73 - 75).
OHNO (1966) und HENEEN (1971) beschrieben die somatische Segregation nur für vierstrahlige Mitosen; die Untersuchungen von PERA und SCHWARZACHER (1969), PERA (1970), PERA und RAINER (1974) und PERA und SCHOLZ (1975) zeigen jedoch, daß eine somatische Segregation auch durch dreistrahlige Mitosen erfolgen kann. In den Abbildungen 73 - 75 sind mögliche Varianten der Chromosomenanordnung in der Metaphasenfigur einer tetraploiden Zelle schematisch dargestellt. Jedes Chromosom soll Teil eines Homologenpaares (z.B. X_1 und X_2 oder X und Y) sein bzw. stellvertretend für einen vollständigen haploiden weiblichen oder männlichen Chromosomensatz stehen.
Zum ersten Mal wurden die möglichen Varianten der Chromosomenanordnung multipolarer Mitosen anhand einer vierstrahligen Metaphase diskutiert (OHNO, 1966; TEPLITZ et al., 1968). Die Chromosomen können hier in alternierender oder in konsekutiver Reihenfolge angeordnet sein (Abb.73 a und b; vgl. auch Abb.70); dementsprechend führt die somatische Segregation in der nachfolgenden Anaphase zur Entstehung von Tochterkernen mit unterschiedlicher Chromosomenzusammensetzung. Nach OHNO (1966) kann derselbe Segregationseffekt auch durch zwei übereinanderliegende bipolare Spindelfiguren erreicht werden (Abb.63 c, 73 c und d). Diese in der vorliegenden Arbeit als Etagenmitosen bezeichneten Teilungsfiguren konnten von HENEEN et al.(1970) in fixierten Präparaten und in dieser Arbeit während der Lebendbeobachtung beschrieben werden. Dabei stellte sich heraus, daß die beiden bipolaren Spindeln einer Etagenmitose so nahe aufeinanderliegen können, daß hier von einem fließenden Übergang der einen in die andere

Metaphasenplatte gesprochen werden kann. Es bleibt jedoch fraglich, ob auch in Etagenmitosen eine alternierende Reihenfolge der Chromosomen (Abb.73 c) möglich ist.

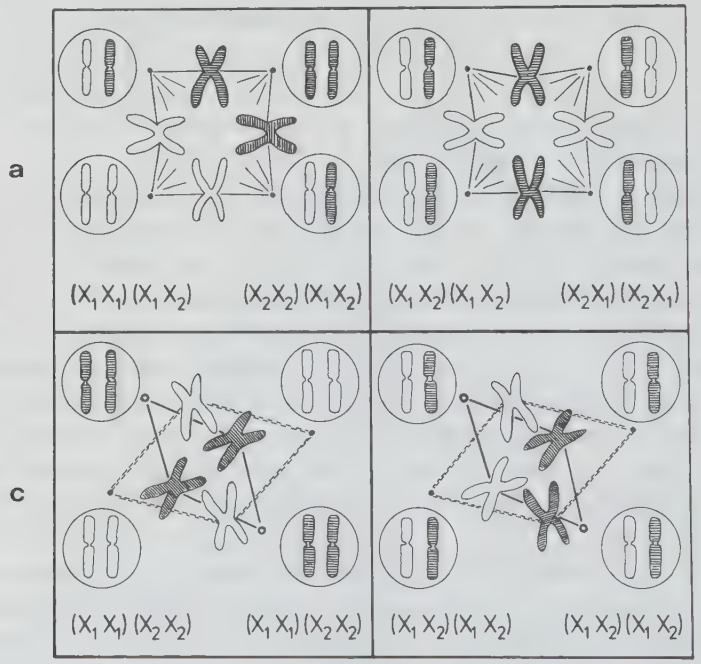


Abbildung 73: Somatische Reduktion und Segregation durch vierstrahlige vierpolige Mitosen (a und b) und Etagenmitosen (c und d) tetraploider Zellen.
Die Chromosomen repräsentieren haploide Sätze bzw. homologe Chromosomen. Anordnung der Chromosomen in konsekutiver (a und d) und alternierender (b und c) Reihenfolge: Vierpolige Etagenmitosen mit konsekutiver Chromosomenanordnung (d) erzielen denselben Segregationseffekt wie vierstrahlige vierpolige Mitosen mit alternierender Reihenfolge der Chromosomen (b) - sofern tatsächlich zutrifft, daß Etagenmitosen aus zwei selbständigen Spindelfiguren bestehen. a und b nach OHNO (1966)

In dreistrahligen tetraploiden Metaphasen finden sich drei mögliche Varianten der Chromosomenanordnung (Abb.74); die von PERA (1970) und PERA und RAINER (1974) anhand dieses Schemas diskutierten Segregationseffekte konnten von ihnen durch Chromosomenanalysen der Tochterkerne dreipoliger tetraploider Mitosen nachgewiesen werden (siehe auch: PERA und SCHOLZ, 1974).

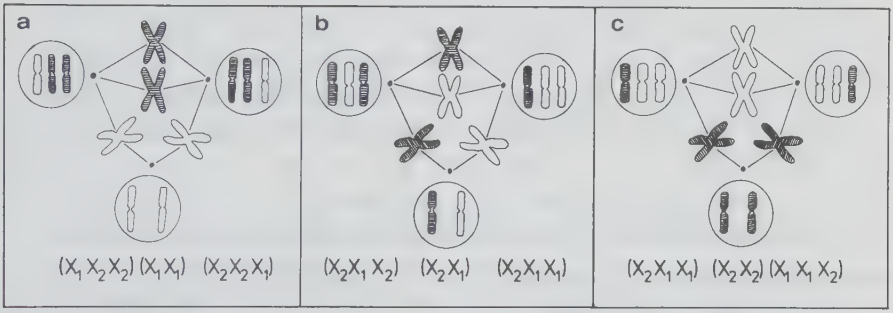


Abbildung 74: Somatische Reduktion und Segregation durch dreistrahlige dreipolige Mitosen tetraploider Zellen. Nach PERA (1970)

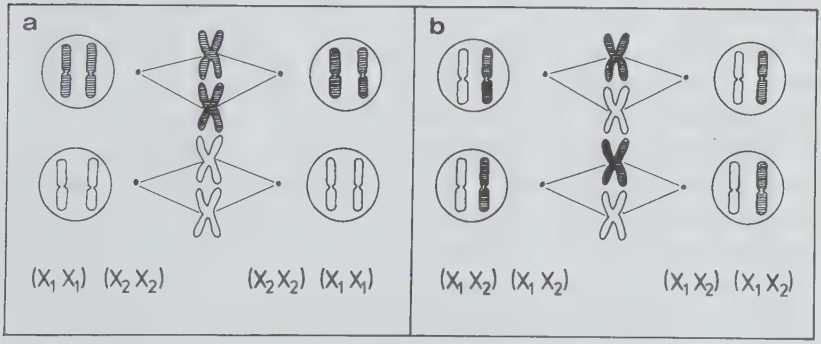


Abbildung 75: Somatische Reduktion und Segregation durch einstrahlige Parallelmitosen tetraploider Zellen.

Varianten der Chromosomenanordnung in einstrahligen multipolaren Mitosen sind in Abbildung 75 dargestellt; auch hier sind die Segregationseffekte u.a. von der Anzahl der Spindelpole abhängig.

STONE et al.(1964), OHNO (1966), SINHA (1967), ENGEL et al.(1969) und MARTIN und SPRAGUE (1969) berichten von einer somatischen Segregation, die ausschließlich die A u t o s o m e n betrifft; die Geschlechtschromosomen waren dabei von der Segregation ausgenommen. Die Befunde von PERA und SCHWARZACHER (1969), PERA und RAINER (1974), RIZZONI et al.(1974) und PERA und SCHOLZ (1974) zeigen jedoch, daß gerade die G e s c h l e c h t s c h r o m o s o m e n dem Mechanismus der somatischen Segregation unterliegen: Sie waren die einzigen Chromosomen, die die erfolgte somatische Segregation eindeutig anzeigten (vgl. auch Kap. IV.13. Abb.77).

IV.12. Lebensfähigkeit der Tochterzellen multipolarer Mitosen

Tochterzellen multipolarer Mitosen sind entweder lebens- und in der Regel auch teilungsfähig, oder sie sterben bald nach Eintritt in die Interphase ab; beide Möglichkeiten, nachfolgende Zellteilung und baldiger Zelltod, können nebeneinander in verschiedenen Tochterzellen derselben multipolaren Mitose vorkommen (SISKEN und KINOSITA, 1961; OFTEBRO und WOLF, 1967; OFTEBRO, 1969). Die in dieser Arbeit vorgelegten Befunde bestätigen diese Beobachtungen. Der Anteil der schon nach einem kurzen Interphasezeitraum absterbenden Tochterzellen multipolarer Mitosen war hier jedoch sehr gering, trotzdem konnte in einigen Fällen (vgl. Tabelle 1) der Zelltod wenigstens einer, manchmal auch mehrerer Tochterzellen multipolarer Mitosen verfolgt werden; der Zelltod, erkennbar an der stark lichtreflektierenden Kugelform der Zelle und der beginnenden Kernpyknose, trat in der Regel nicht später als 3 - 9 Stunden nach der Mitose ein. Da jedoch der überwiegende Anteil der Tochterzellen multipolarer Mitosen spätestens zwei Stunden nach Ende der Mitose fixiert wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, daß einige dieser Zellen im Lauf der nachfolgenden Interphase abgestorben wären. Die Langzeitbeobachtunger

zeigten jedoch, daß bei längerer Beobachtungsdauer der Anteil absterbender Tochterzellen multipolarer Mitosen nicht wesentlich ansteigt, sofern die Homöostase der Beobachtungskammer nicht gestört wird.
Für das Absterben der Tochterzellen multipolarer Mitosen bieten sich verschiedene Erklärungen an: MARTIN und SPRAGUE (1970) stellten fest, daß in einem vorwiegend tetraploiden Zellstamm nur die diploiden Segreganten multipolarer Mitosen überlebten. In den beobachteten Lungenfibroblasten der Erdmaus jedoch überlebten Zellen unterschiedlicher Ploidiestufen; ein durch den Zelltod ihrer Schwesterzellen hervorgehobener selektiver Vorteil von Zellen einer bestimmten Ploidiestufe erscheint somit unwahrscheinlich. Vielmehr deuten die typischen Veränderungen des Cytoplasmas und der Kernstruktur darauf hin, daß der Zelltod von Tochterzellen bi- und multipolarer Mitosen in den meisten Fällen durch die für viele Beobachtungen verwendete kontinuierliche Belichtung ausgelöst worden sein könnte (vgl. auch FUSELER, 1975; INOUE et al., 1975), zumal im selben Beobachtungsareal auch jeweils mehrere Tochterzellen anderer, bipolarer Mitosen abstarben. Die Ergebnisse von WANG (1974) und WANG und YIN (1976), die in hitzegeschädigten Zellen dieselben charakteristischen Zellveränderungen wie in den in dieser Arbeit verfolgten absterbenden Tochterzellen multipolarer Mitosen beschrieben, unterstützen die Wahrscheinlichkeit eines möglichen licht- und/oder hitzebedingten Zelltodes - wobei ein Überleben hitzeresistenter Tochterzellen durchaus möglich sein kann.
Da während der Lebendbeobachtung die Temperatur in der Beobachtungskammer selbst nicht gemessen werden konnte, beruhen Aussagen über den licht- und hitzebedingten Zelltod auf theoretischen Erwägungen und Vergleichen der beobachteten Zellveränderungen mit denen anderer, hitzegeschädigter Zellen. Die kontinuierliche Belichtung multipolarer Mitosen mit hoher Lampenspannung (> 6 V) schädigte nicht nur die Tochterzellen dieser Mitosen sondern neben einzelnen im beleuchteten Gesichtsfeld gelegenen Tochterzellen bipolarer Mitosen auch Interphasezellen unbekannter Herkunft. Aber auch bei weit kürzerer und weniger intensiver Be-

lichtung (intermittierende Belichtung mit 4 - 6 V Lampenspannung) starben einzelne oder alle Tochterzellen multipolarer Mitosen ab, ohne daß sich jedoch ähnliche Degenerationszeichen an in der Nachbarschaft gelegenen Zellen gezeigt hätten. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Licht/Temperatur und Zelltod kann hier nicht aufgezeigt werden. Vielmehr könnte in diesem Fall das Absterben der Zellen mit einem gestörten Mitosemechanismus und der daraus folgenden aneuploiden Chromosomenkonstitution einzelner Tochterzellen erklärt werden. Neben der irregulären Zusammensetzung des Karyotyps kann aber auch ein verändertes Kern-Cytoplasma-Verhältnis die Zellaktivität beeinflussen: PRESCOTT (1959) weist auf die Bedeutung des "Geburtsgewichts" einer Zelle für ihren Zellzyklus hin; bei einer ungünstigen, d.h. zu großen Kern-Cytoplasma-Relation, die durch die inäquale Furchung in der Telophase mehrpoliger Zellteilungen entstehen kann, könnte die Lebensfähigkeit einer Tochterzelle bis hin zum Zelltod eingeschränkt werden.

Die Beobachtungen multipolarer Mitosen wurden an weiblichen Zellen durchgeführt. Wie PERA und SCHWARZACHER (1969), PERA (1970), PERA und RAINER (1974) und PERA und SCHOLZ (1975) erörterten, kann es in weiblichen Zellkulturen durch den Mechanismus der multipolaren Mitose zu einer somatischen Segregation und Neukombination auch der Geschlechtschromosomen kommen. So sind z.B. bei einer Chromosomenaufteilung im Verhältnis 3 : 2 : 3 je nach Anordnung der Chromosomensätze in der dreistrahligen Metaphasenfigur im weiblichen Geschlecht folgende Kombinationen der Geschlechtschromosomen zu erwarten: X_1X_1 / X_1X_2 / X_2X_2 für die diploiden und $X_1X_1X_2$ bzw. $X_1X_2X_2$ für die triploiden Tochterzellen (vgl. Abb.74). Da seit der frühen Embryonalperiode im weiblichen Geschlecht jeweils eins der beiden X-Chromosomen (X_2) genetisch inaktiviert vorliegt (LYON, 1961), können durch multipolare Mitosen Tochterzellen mit ausschließlich aktiven bzw. inaktiven Geschlechtschromosomen entstehen: z.B. X_1X_1 oder X_2X_2. PERA und SCHOLZ (1975) konnten zeigen, daß in Zellen mit mehreren ursprünglich aktiven X-Chromosomen auch nach mehrjähriger Kulturzeit eine Inaktivierung eines X-Chromosoms nicht stattfindet; die

Lebensfähigkeit dieser Zellen bleibt durch überzählige aktive X-Chromosomen unbeeinflußt. Dagegen wurden Tochterzellen mit ausschließlich inaktiven X-Chromosomen in den untersuchten Kulturen nicht gefunden, was möglicherweise ein Indiz für eine eingeschränkte Lebensfähigkeit von weiblichen Zellen ohne aktive X-Chromosomen ist. Obwohl in der Lebendbeobachtung der Karyotyp absterbender Tochterzellen multipolarer Mitosen nicht bestimmt werden konnte, sollte in diesem Fall das Vorhandensein mehrerer ausschließlich inaktiver X-Chromosomen als eine mögliche Ursache des Zelltodes in Erwägung gezogen werden. Dies würde auch erklären, warum bei geordneter Verteilung des genetischen Materials durch multipolare Mitosen die eine Tochterzelle nach wenigen Stunden abstirbt, während die restlichen Zellen scheinbar unbeeinflußt die Interphase durchlaufen und in Mitose gehen können.

IV.13. Der haploide Chromosomensatz

Die in dieser Arbeit an multipolaren Mitosen von Lungenfibroblasten erhobenen Befunde zeigen, daß zumindest in euploiden Geweben die Chromosomen in der Regel nach vollständigen haploiden Sätzen geordnet auf die Tochterzellen verteilt werden. Diese Beobachtung wird durch zahlreiche an unterschiedlichen Geweben und Tierspecies durchgeführte Untersuchungen bestätigt (BALTZER, 1909; HUSKINS, 1948; HUSKINS und CHENG, 1950; OHNO, 1966; PAWLOWITZKI und CENANI, 1967; SINHA, 1967; STOREY, 1968; TEPLITZ et al., 1968; PERA und SCHWARZACHER, 1969; HENEEN et al., 1970; MARTIN und SPRAGUE, 1970; PERA, 1970; HULTEN et al., 1970; PALITTI und RIZZONI, 1972; PERA und RAINER, 1973, 1974; PERA und SCHOLZ, 1974). PALITTI und RIZZONI (1972) schließen daraus, daß der haploide Chromosomensatz eine dem Gen und dem Chromosom übergeordnete, höhere Organisationseinheit des genetischen Materials darstellt. Dieser als "suprachromosomal organization of the genom" (RIZZONI et al., 1974; Übersicht bei DuPRAW, 1970) umschriebene Ordnungsgrad gewährleistet, daß bei jeder Zellteilung die Chromosomen zu "funktionellen Teilungseinheiten" (PALITTI und RIZZONI, 1972) in Form eines vollständigen haploiden Satzes

oder ganzzahliger Vielfacher davon zusammengefaßt auf die Pole der Teilungsfigur verteilt werden. Obwohl dieser Gedanke schon seit den Beobachtungen von BALTZER (1909) und KOSTANECKI (1911) diskutiert wird, sind die genauen Mechanismen, die zur exakten Aufteilung der Chromosomen in haploide Sätze führen, noch immer unbekannt.

Heute wird allgemein nicht mehr davon ausgegangen, daß zwischen den Kinetozentren und den Chromosomen permanente faserige Verbindungen auch während der Interphase bestehen, so wie es LETTRE und LETTRE (1958, 1959) und GOLDSTEIN (1967) aufgrund ihrer Ergebnisse in Erwägung zogen. Die Befunde von BAHR und ENGEL (1977) lassen allerdings wieder an eine vielleicht ähnlich beschaffene Verknüpfung von Centriolen und Interphase-Mitose-Chromosomen denken: In Chromosomenpräparationen menschlicher Lymphocyten fanden sich zwischen Centriolen und einigen Chromosomen dünne fädige Verbindungen, die möglicherweise aus Chromatin bestanden und somit eine dauerhafte Centriolen-Chromosomen-Verbindung darstellen könnten.

OHNO (1966) und TEPLITZ et al.(1968) vermuteten eine Affinität des Spindelapparates zu bestimmten Chromosomen oder ganzen haploiden Chromosomensätzen. Diese nicht weiter belegte These ist jedoch schwer mit den Beobachtungen von HENEEN (1975) in Einklang zu bringen. HENEEN konnte zeigen, daß in frühen Metaphasestadien mehrpoliger Teilungsfiguren die Chromatiden bestimmter Chromosomen mikrotubuläre Verbindungen nicht nur mit einem sondern sogar mit jeweils zwei Spindelpolen aufweisen können. Die schließlich erfolgende eindeutige Zuordnung eines Chromatids zu einem Spindelpol und die gleichzeitig zu beobachtende Auflösung der zweiten, jetzt überzähligen Pol-Centromer-Verbindung sind hier jedoch eher auf die Dynamik des Spindelapparates als auf eine nicht näher definierte Affinität der Spindelfasern zu einem Chromatid zurückzuführen. Auch die Untersuchungen von LUYKX (1965) über die Entstehung meiotischer Spindeln in den Eiern des Urechis-Wurms scheinen der Affinitätstheorie von OHNO (1966) und TEPLITZ et al.(1968) zugunsten der Spindeldynamik zu widersprechen: In einem ersten Schritt der

Spindelbildung gehen beide Schwesterkinetochoren eines Chromosoms Verbindungen mit Spindelpolen ein - aber erst im folgenden zweiten Schritt scheint sich zu entscheiden, welches (ungeteilte) Chromosom zu welchem der beiden Spindelpole bewegt wird (zit. nach MAZIA, 1977).

Eine Erklärung für die funktionelle Zusammenfassung der Chromosomen zu haploiden Sätzen findet sich möglicherweise auf molekularer Ebene. MAZIA (1977) beantwortet die Frage, warum die beiden Chromatiden eines Chromosoms jeweils zu zwei verschiedenen Spindelpolen bewegt werden, damit, daß er eine molekulare Asymmetrie im Aufbau und in der Replikation der beiden Schwesterkinetochoren eines Chromosoms und der beiden Spindelpole postuliert; d.h. in einer Zelle ist der molekulare Aufbau der zwei Kinetochoren eines Chromosoms und der zwei Spindelpole jeweils einmal links- ("left-handed") und einmal rechtsorientiert ("right-handed"). MAZIA hält es für möglich, daß sich zu Beginn der Mitose nur die g l e i c h s e i t i g o r i e n t i e r t e n Strukturen (also Centriolen und Kinetochoren) miteinander verbinden können. Mazias Theorie läßt sich leicht dahingehend erweitern, daß aufgrund eines unterschiedlichen molekularen Bauprinzips nicht nur die beiden Schwesterkinetochoren eines Chromosoms von den Polregionen und ihren Spindelfasern differenziert werden können, sondern auch eine Unterscheidung vollständiger haploider Chromosomensätze nach demselben Erkennungsmechanismus möglich ist. Für eine diploide Zelle würde dies bedeuten, daß ein jeder Spindelpol die beiden haploiden Chromatidensätze zwar unterscheiden kann, durch die Bipolarität und den damit verknüpften Aufteilungsmodus jedoch diese Fähigkeit wieder verdeckt wird. Weiter oben wurde schon darauf hingewiesen, daß in diploiden bipolaren Mitosen von Säugerzellen die Spindelpole aus pericentriolärem Material und aus einem Centriolenpaar bestehen; das Centriolenpaar wiederum setzt sich aus zwei 'subunits' (einem Mutter- und einem Tochtercentriol) zusammen, die unter in vitro-Bedingungen beide die Funktion Mikrotubuli-organisierender Zentren (MTOC) übernehmen können. Da in euploiden Zellen in der Regel die Relation Zahl der haploiden Chromatidensätze : Zahl der subunits 1 : 1 sein sollte, ist es zumindest theoretisch

denkbar, daß analog zu Mazias Theorie jedes Centriol eines Centriolenpaars einen haploiden Chromosomensatz "kontrolliert". Unterstützt wird diese Vermutung durch die Befunde von FRIEDLÄNDER und WAHRMANN (1970), die in der Spermiogenese der männlichen Seidenraupe (Bombyx mori) eine feste Korrelation zwischen haploidem Chromosomensatz und Einzelcentriol (subunit) feststellten.

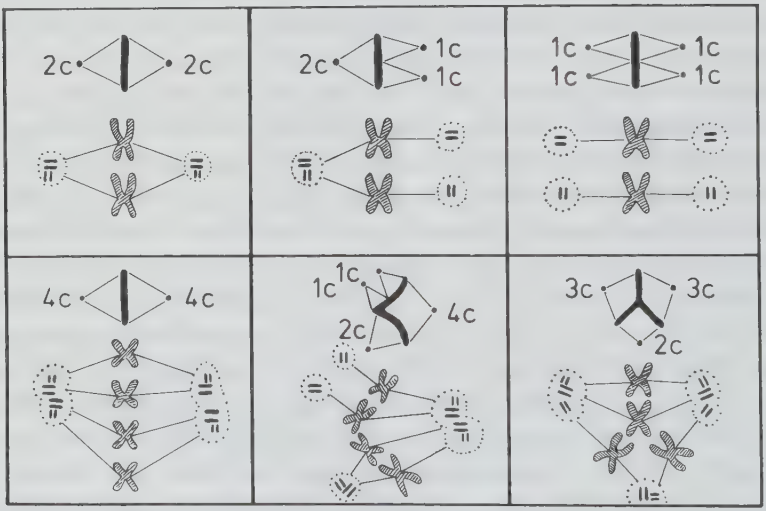


Abbildung 76: Dominanz des Einzelcentriols (subunit) über einen haploiden Chromosomensatz. Theoretische Erwägungen zum Aufbau der Polregionen multipolarer Teilungsfiguren und bipolarer Spindeln, aus denen Tochterkerne mit vollständigen haploiden Chromosomensätzen bzw. ganzzahligen Vielfachen davon hervorgingen.

Unter der Voraussetzung, daß die Summe der Mutter- und Tochtercentriolen immer gleich der Anzahl haploider Chromatidensätze ist, läßt sich für die beobachteten multipolaren und polyploiden Mitosen leicht die Zuordnung von haploiden Chromatidensätzen zu Einzelcentriolen schematisch darstellen (Abb.76). Hierbei sind haploide Pole (d.h. Pole, aus denen ein haploider Tochterkern hervorgehen

wird) durch ein, diploide Pole durch zwei und triploide Pole durch drei Centriolen charakterisiert. Es soll hier jedoch noch einmal darauf hingewiesen werden, daß in Reduktionsteilungsfiguren durchaus auch acentrioläre Polregionen auftreten können, und daß die Spindelfasern in der Regel nicht an den Centriolen selbst sondern vielmehr am pericentriolären Material bzw. den Satelliten ansetzen. Weiterhin spricht gegen die These von der Kontrolle eines haploiden Chromatidensatzes durch ein einzelnes Centriol die Beobachtung, daß u.a. in tetraploiden Zellen der ungeradzahlige Verteilungsmodus des genetischen Materials im Verhältnis 3 : 2 : 3 (Abb.76 f) besonders häufig zu sein scheint (PERA, 1970; PERA und RAINER, 1973), was unter den obigen Voraussetzungen eine ebenso häufige Trennung der Mutter-Tochter-Centriolen-Komplexe bedeuten würde. Diese Trennung konnte bisher jedoch noch nicht in einer solchen Regelmäßigkeit nachgewiesen werden. Es ist denkbar, daß eine (möglicherweise nur scheinbare) Centriolen - haploider Chromatidensatz - Korrelation auf eine weit einfachere Art und Weise ihre Erklärung findet: Je mehr centrioläre oder andere Strukturen eine Polregion bilden, desto mehr mikrotubuläre Verbindungen werden zwischen dieser Region und den Chromosomen möglich, folglich werden auch mehr Anaphasechromosomen diese Polregion erreichen (HENEEN, pers. Mitteilung).

Neben der Affinität der Spindelfasern zu bestimmten Chromosomen oder ganzen haploiden Chromosomensätzen und einer auf molekularem Niveau festgelegten engen Beziehung zwischen Centriol und zugehörigem Chromosomensatz müssen auch die Kinetochoren selbst als die für die funktionelle Zusammenfassung der Chromosomen verantwortlichen Zellstrukturen in Erwägung gezogen werden. In vielen Pflanzen- und einigen Tierspecies (SPECHT, 1961) gehen die Spindelfasern primär von den Chromosomen aus, und erst sekundär konvergieren die einzelnen Fasern zu einer häufig acentriolären Polregion (BAJER, 1954, 1961, 1965a). HUGHES-SCHRADER (1924, 1931, 1942, 1969) konnte bei Insekten beobachten, wie sich bei intakter Kernmembran um jedes einzelne Chromosom eine gesonderte Spindel bildete ohne Ausrichtung auf spätere Spindelpolregionen; eine entsprechende polare Orientierung zeigte

sich erst während der Metaphase, in der die Spindeln der einzelnen Chromosomen zueinander parallel ausgerichtet waren. Es ist somit nicht ausgeschlossen, daß die Chromosomen bzw. die Kinetochoren selbst Träger der für die "suprachromosomal organization of the genom" notwendigen genetischen Information sind, die bei der Zellteilung eine Verteilungskontrolle ("distribution control" - TEPLITZ et al., 1968) der Chromosomen in Form vollständiger haploider Sätze erst ermöglicht.
Andererseits ist aber auch daran zu denken, daß die Chromosomen schon vor der Spindelbildung derart vorsortiert sind, daß selbst eine nach den Gesetzen des Zufalls erfolgende Spindelbildung ("contact by chance") stets zu einer Aufteilung vollständiger haploider Chromosomensätze bzw. ganzzahliger Vielfacher davon führen muß. Für diese Möglichkeit liegen zahlreiche Hinweise vor: Die Untersuchungen vieler Autoren (WILSON, 1925; BOSS, 1959; DuPRAW, 1965; HSU et al., 1967; HOSKINS, 1968; ZANG und BACK, 1968; CHOWDAIAH, 1969; LAMPERT et al., 1969; GOLOMB und BAHR, 1971, 1973, 1974 a, b; RIDLER und OHARA, 1972; SCHNEIDER, 1973; TAKAYAMA, 1975; GODIN und STACK, 1976) zeigen, daß die bei konventioneller Präparationstechnik ohne erkennbare Verbindung zu ihren Nachbarn dargestellten Chromosomen durchaus über feine Stränge ("interchromosomal connectives") miteinander verknüpft sein können. DuPRAW (1970) vertritt die Ansicht, daß die zwischen den Chromosomen beobachteten Verbindungsbrücken ein Indiz für ein "einziges, zirkuläres und enorm langes DNS-Molekül" sind, als dessen prominenteste Abschnitte gewöhnlich nur die Chromosomen selbst - nicht aber die viel dünneren Zwischenstücke - erkennbar sind. YU (1971) dagegen glaubt eher an die Existenz von Protein- und nicht Chromatinbrücken zwischen den Chromosomen. COSTELLO (1970) interpretiert seine Befunde dahingehend, daß diese hochspezifischen Stränge die Chromosomen eines haploiden Satzes zusammenhalten. So reihen möglicherweise die zwischen den Chromosomen verlaufenden Brücken die Einzelchromosomen eines haploiden Satzes wie die Perlen einer Kette auf. Der von COSTELLO (1970) in Erwägung gezogene Mechanismus würde somit auf einfache Weise den Zusammenhalt der Chromosomen eines haploiden Satzes gewährleisten. AVIVI et al. (1969, 1970) diskutieren ein ähn-

liches Ordnungssystem der Chromosomen. Sie vertreten die Auffassung, daß die relative Position der Chromosomen durch Mikrotubuli aufrecht erhalten wird.
Eine enge Bindung von Interphasechromatin und Prophasechromosomen an die Kernmembran ist seit langem bekannt (BEAMS, 1948; GALL, 1963; DuPRAW, 1965; PAWLOWSKI und BERLOWITZ, 1969; COMINGS, 1968, 1972; COMINGS und OKADA, 1970; BEAMS und MUELLER, 1970; MAUL, 1970; STUBBLEFIELD und WRAY, 1971; ESPONDA und GIMENEZ-MARTIN, 1972; FRANKE et al., 1972, 1973; ROOS, 1973; PAWELETZ, 1974; CLAY et al., 1975; DIAZ und LEWIS, 1975; RICKARDS, 1975; FUGE, 1976). Es gibt Hinweise dafür, daß die membrangebundenen Chromosomen in bestimmter Beziehung zu den Polregionen im Cytoplasma stehen. Am Ende der Prophase bricht die Kernmembran auseinander, jedoch die mit Chromosomen verbundenen Membranstückchen wandern zusammen zu den Spindelpolen und bilden in der folgenden Telophase die Kernmembran des Tochterkerns (MURRAY et al., 1965; STEVENS, 1965; ROTH, 1967; STUBBLEFIELD und WRAY, 1971). PAWELETZ (1974) nimmt sogar an, daß HeLa-Chromosomen durch die Kernmembran aktiv in Richtung der Polregion bewegt werden.

Ebenso wie eine feste Verknüpfung der Chromosomen mit der Kernmembran können auch andere, die Position der Chromosomen im Zellkern regulierende Faktoren für die nach vollständigen haploiden Sätzen geordnete Verteilung des genetischen Materials in Frage kommen, da durch sie möglicherweise eine Vorsortierung der Chromosomen erfolgt.
Die Lage der Chromosomen im Interphasekern und zum Teil auch in der Metaphasenplatte (WARBURTON et al., 1973; HENS, 1975, 1976) ist nicht willkürlich, sie erscheint vielmehr nach bestimmten Ordnungsprinzipien festgelegt (Übersicht bei PERA, 1970; SCHWARZACHER, 1976). Für die seit RABL (1885) immer wieder bestätigte, scheinbar einem festgelegten Konzept folgende Anordnung der Chromosomen im Interphasekern (MILLER et al., 1963 a, b; COMINGS, 1968; ASHLY und WAGENAAR, 1974; VOGEL und SCHROEDER, 1974; WERRY et al., 1977) macht man heute u.a. eine Kernmatrix (BEREZNY und COFFEY, 1974; HILDEBRAND et al., 1975) bzw. ein

Kerngerüst (RILEY et al., 1975; AARONSON und BLOBEL, 1975) verantwortlich, an das sich neu synthetisierte DNS anlagert. Für die mitotische Verteilung des genetischen Materials kann die definierte Lage der Chromosomen im Interphase- und Prophasekern einer Vorsortierung gleichkommen, die gewährleistet, daß selbst bei relativ willkürlicher Bildung mikrotubulärer Pol-Kinetochor-Verbindungen die Einheit des vollständigen haploiden Satzes erhalten bleibt.

Das präzise Funktionieren des von TEPLITZ et al. (1968) als "distribution control" umschriebenen Mechanismus, durch den die Mitose-Chromosomen jeweils zu Einheiten vollständiger haploider Sätze zusammengefaßt werden, wird durch die in dieser Arbeit an einer euploiden Zellkultur erhobenen Befunde unterstrichen. Wie Langzeitbeobachtungen zeigten, konnte dieser Mechanismus nicht nur in multipolaren Mitosen vermutet werden, in denen jeweils ganzzahlige V i e l f a c h e eines vollständigen Chromosomensatzes auf die Polregionen verteilt wurden, sondern er fand sich mit großer Wahrscheinlichkeit auch in aufeinanderfolgenden mehrpoligen Zellteilungen, in denen jeweils nur ein einziger haploider Satz in den Einflußbereich eines Spindelpols gelangte und schließlich zur Entstehung eines haploiden Zellkerns führte.
Analog zu der von RIZZONI et al. (1974) getroffenen Definition der im Lauf aufeinanderfolgender Zellzyklen "vererbbaren Multipolarität" läßt sich hier aufgrund der Beobachtungen feststellen, daß - bedingt durch die funktionelle Zusammenfassung der Chromosomen zu vollständigen haploiden Sätzen u n d die Mehrpoligkeit der Teilungsfigur - eine "vererbbare Kern-Haploidie" sichtbar wird, die in somatischen Geweben gewöhnlich durch die Bipolarität diploider Spindelfiguren verdeckt wird, deren Existenz aber selbst z w e i p o l i g e n diploiden Teilungsfiguren den Charakter von (zwei haploiden) Parallelmitosen verleihen könnte (siehe Kap. III.14. und III.26.).

Die Bedeutung der funktionellen Zusammenfassung des genetischen Materials zu vollständigen haploiden Chromosomensätzen zeigt sich besonders deutlich in mehrpoligen Mitosen, die einerseits

in euploiden Kulturen zur Entstehung euploider Tochterkerne, andererseits in aneuploiden Kulturen (bei Verlust oder Einschränkung dieses Ordnungsprinzips?) zur Entstehung aneuploider Tochterkerne führen. Zwar wird ein Zusammenhang zwischen Aneuploidie und Onkogenese (BOVERI, 1914) nicht mehr für sehr wahrscheinlich gehalten, doch lassen die Befunde von HUGHES (1968), der ein Zusammentreffen von Neoplasien und abnormen Mitosen feststellte, wieder an einen derartigen kausalen Zusammenhang denken. Somit wäre der eigentliche Zweck der Chromosomenorganisation zu vollständigen haploiden Sätzen in der Verhinderung von Aneuploidie (PALITTI und RIZZONI, 1972) und damit eventuell in der Verhinderung der Onkogenese zu sehen.

Es ist noch nicht bekannt, ob und wie sich die als funktionelle Einheiten definierten haploiden Chromosomensätze im Laufe eines oder mehrerer aufeinanderfolgender Zellzyklen in ihrer Chromosomenzusammensetzung verändern - oder ob der haploide Satz tatsächlich eine unveränderliche Einheit darstellt.
PALITTI und RIZZONI (1972) unterscheiden in ihren hypothetischen Betrachtungen zwischen homogenen und heterogenen haploiden Chromosomensätzen. Die homogenen Sätze bestehen ausschließlich aus mütterlichen bzw. väterlichen Chromosomen; eine spätere Rekombination, d.h. der Austausch väterlicher Chromosomen gegen mütterliche oder umgekehrt, findet nicht statt. Heterogene haploide Chromosomensätze bestehen sowohl aus mütterlichen als auch aus väterlichen Chromosomen. Die Chromosomenzusammensetzung der heterogenen Sätze bleibt entweder immer konstant, oder sie ändert sich von Zellzyklus zu Zellzyklus. In letzterem Fall könnte durch multipolare Mitose eine Art "Meiose in vitro" bewirkt werden, die zu einer Neukombination der Chromosomen sämtlicher Tochterkerne führt. In diesem bisher allerdings noch nicht nachgewiesenen Modell wäre somit ein "parasexueller Zyklus" (PONTECORVO, 1955) gefunden, der mit jeder Zellteilung Geschlechtschromosomen und Autosomen zu rekombinierten haploiden Sätzen zusammenstellen und auf die Tochterkerne verteilen könnte (vgl. Abb. 77). Sollte diese Möglichkeit tatsächlich nachgewiesen werden, so würde die multipolare Mitose für genetische Unter-

Abbildung 77:

Somatische Segregation vollständiger haploider Chromosomensätze nach erfolgtem Austausch homologer Chromosomen (hypothetisches Modell).
Jeder diploide Zellkern der tetraploiden Zelle enthält einen mütterlichen (X A B) und einen väterlichen (y a b) Chromosomensatz; im Schema sind nur die Geschlechtschromosomen und je zwei Autosomen eingezeichnet.
Im rechten Zellkern erfolgt ein Austausch homologer Chromosomen, der ein mütterliches Chromosom in den väterlichen und ein väterliches Chromosom in den mütterlichen Satz bringt, ohne daß die funktionelle Einheit des haploiden Satzes dadurch gestört wird.

In der vierstrahligen Metaphasenfigur sind die beiden Chromosomensätze eines Kerns in der Regel jeweils auf benachbarten Strahlen angeordnet; die anaphasische Chromatidentrennung ist durch Verbindungsstücke angedeutet.

Es entstehen vier diploide Tochterkerne, die sich in der Zusammensetzung sowohl der Geschlechtschromosomen als auch der Autosomen unterscheiden können; die beiden gegenüberliegenden Zellkerne (punktierte Kernmembran) sind identisch.

Klonierung der Tochterzellen könnte zu stabilen diploiden Zelllinien führen, die je nach erfolgtem Chromosomenaustausch und Unterschieden zwischen homologen väterlichen und mütterlichen Chromosomen verschiedene Enzymmuster zeigen und dadurch - bei möglicher Differenzierung der homologen mütterlichen und väterlichen Chromosomen - zur eindeutigen Zuordnung von Enzymdefekten und Chromosomen beitragen könnten (vgl. auch MARTIN und SPRAGUE, 1969).

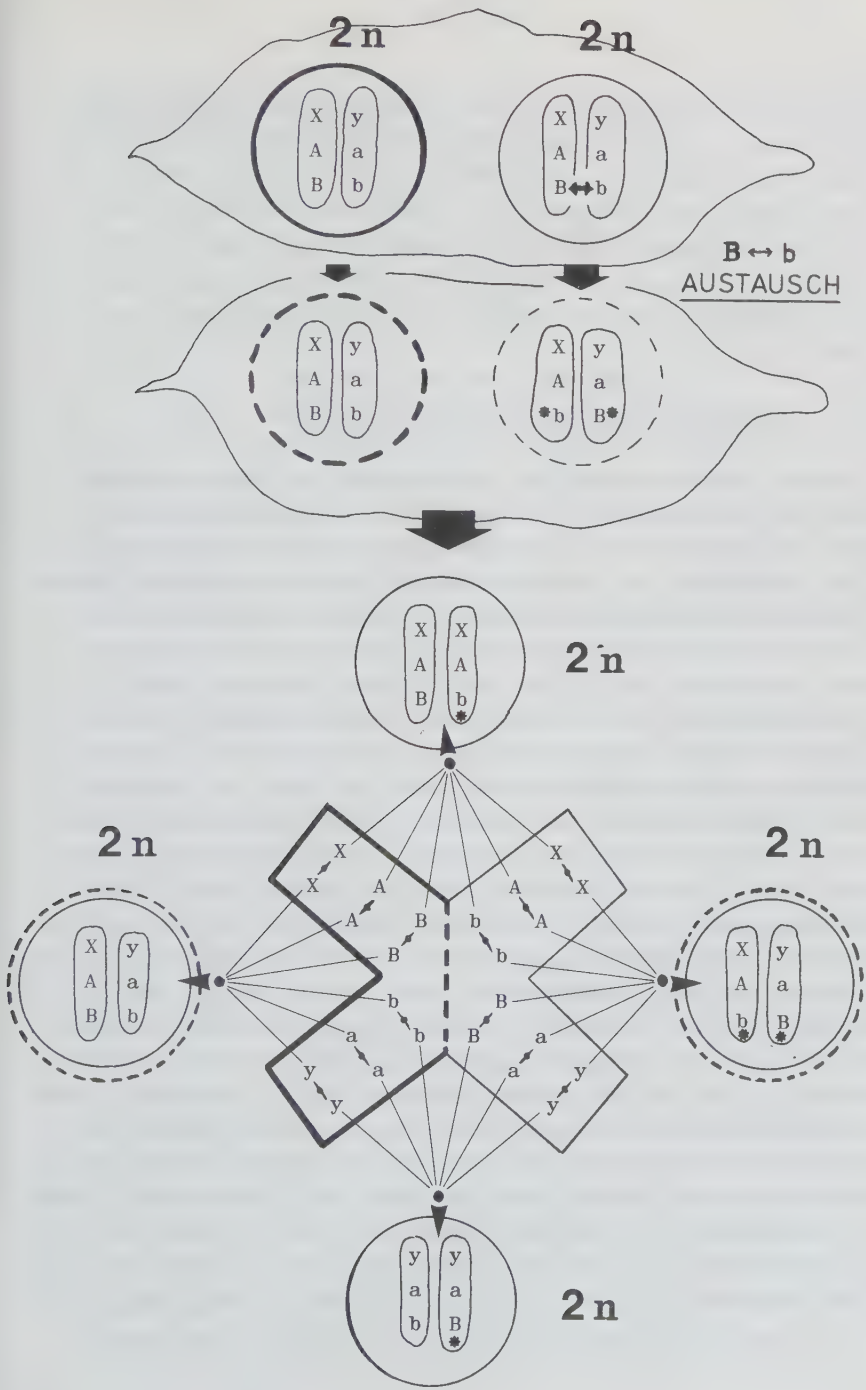


Abb. 77

suchungen (gen-mapping etc.) größte Bedeutung erlangen, da der durch sie ermöglichte parasexuelle Zyklus in Kombination mit der somatischen Reduktion zu einer Fülle in ihrer Chromosomenzusammensetzung unterschiedlicher Tochterkerne verschiedener Ploidiestufen führen könnte. Die Bedeutung eines derartigen parasexuellen Zyklus für zukünftige genetische Untersuchungen wird von MARTIN und SPRAGUE (1969) anhand eigener Ergebnisse ausführlich diskutiert.

IV.14. Die Bedeutung der multipolaren Mitose

Die ersten Untersuchungen der Chromosomenverteilung durch multipolare Mitosen wurden von BOVERI (1888) an einer vierpoligen Mitose des Pferdespulwurms (Ascaris megalocephala) durchgeführt. BOVERI gelangte zu der Ansicht, daß durch die multipolare Mitose - ganz im Gegensatz zur bipolaren Mitose - keinesfalls eine nach vollständigen Chromosomensätzen geordnete Aufteilung des genetischen Materials auf die Tochterkerne erfolgen könne: "Die Karyokinese, die bei Anwesenheit zweier Pole ein Mechanismus von nahezu idealer Vollkommenheit ist, um einen Kern in zwei quantitativ identische Tochterkerne zu zerlegen, sie verkehrt diese Vorzüge gerade in das Gegenteil, sobald eine größere Zahl von Centrosomen in Wirksamkeit tritt; und ein viel roherer Prozeß könnte eher imstande sein, bei einer simultanen Mehrteilung des Kerns gleiche Tochterkerne herzustellen, als die so sorgfältig arbeitende Karyokinese" (S. 185). Boveris Auffassung, die Aufteilung des genetischen Materials durch multipolare Mitosen sei eine willkürliche und unterliege somit den Gesetzen des Zufalls, kann heute ebensowenig als generell widerlegt betrachtet werden wie sein abschließendes Urteil: "Bei allen mehrpoligen Figuren, bei denen die Zahl der Tochterkerne und die Quantität und Qualität ihrer Substanz vom Zufall abhängig ist, wird der Zweck der Karyokinese verfehlt: Aus diesem Grunde müssen wohl alle mehrpoligen Teilungsfiguren als pathologische bezeichnet werden, und wenn dieselben doch in einer Entwicklung als normal vorkommen sollten, so müssen entweder die Kernelemente ..... dieser Mehrpoligkeit angepaßt sein, oder es muß sich um

die Bildung von Kernen handeln, für die die Menge und Qualität der Kernsubstanz gleichgültig ist" (S. 188).
Das Prinzip der zufallsbedingten Chromosomenverteilung durch multipolare Mitosen wurde in weiteren Untersuchungen immer wieder bestätigt (SCHOTTLÄNDER, 1888; MORGAN, 1895; BOVERI, 1903, 1907; BOWEN, 1922; WILSON, 1925; FANKHAUSER, 1934; POLITZER, 1934; BÖÖK, 1945; TIMONEN und THERMAN, 1950; BARTHELMESS, 1957; FETNER und PORTER, 1965) und ist heute - allerdings bis auf wesentliche Ausnahmen - allgemein anerkannt (LUYKX, 1970; ZALKIND, 1971; KOSS, 1974), nicht zuletzt aufgrund der Tatsache, daß der überwiegende Teil der Untersuchungen an aneuploiden Zellinien und malignem Tumorgewebe durchgeführt wurde. Diese Gewebe sind stets reich an Mitoseanomalien; eine nach ganzen Genomen geordnete Verteilung der Chromosomen findet sich in diesen Zellen auch bei bipolaren Mitosen nur selten. So scheint es verständlich, daß STERN (1958) von der zufälligen Aufteilung der Chromosomen bei multipolaren Mitosen als einer feststehenden Tatsache spricht.
Auf die große Bedeutung der zufälligen Chromosomenaufteilung bei multipolaren Mitosen wies BOVERI (1914) in seiner Arbeit "Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren" hin. Er stellte fest, daß Krebszellen über eine von der Norm abweichende Chromosomenzahl verfügen können; jegliche Veränderung der Chromosomenzahl sei als Ursache bösartigen Wachstums anzusehen. BOVERI glaubte, den durch multipolare Mitosen bedingten Verlust bestimmter zellteilungshemmender Chromosomen bzw. das Überwiegen zellteilungsfördernder Chromosomen für die Onkogenese verantwortlich machen zu können. Schon vor BOVERI hielten es ARNOLD (1879) und insbesondere HANSEMANN (1890) für möglich, daß multipolare Mitosen die Ursache bösartiger Tumoren sein könnten. Tatsächlich finden sich multipolare Mitosen in malignem Tumorgewebe besonders häufig (MAYZEL, 1875; EBERTH, 1876; ARNOLD, 1879; KROMPECHER, 1893; BOVERI, 1914; ROWEN und MALLORY, 1933; WARREN, 1933; YOSIDA, 1948; TIMONEN und THERMAN, 1950, 1954; CHU und GILES, 1958; RUTISHAUSER, 1963; OFTEBRO und WOLF, 1967; OFTEBRO, 1968; Übersicht bei HAMPERL, 1956). Auch unter in vitro-Bedingungen ist ihr zahlreiches Vor-

kommen in bösartigen Geweben auffällig, so z.B. in HeLa-Kulturen (abstammend von einem menschlichen Uteruskarzinom) und in Hep-2-Kulturen (Karzinom des Kehlkopfes). Neben anderen Mitoseanomalien gehören multipolare Mitosen mit zu den sichersten Hinweisen auf karzinomatöses und präkanzeröses Wachstum; für bestimmte Karzinome des weiblichen Genitale sind sie geradezu charakteristisch (KNÖRR, BELLER und LAURITZEN, 1972).
Jedoch gelten multipolare Mitosen heute allgemein nicht mehr als Ursache sondern vielmehr als Folge karzinomatöser Prozesse (HAMPERL, 1956). Das gehäufte Auftreten multipolarer Mitosen in bösartigen Geweben wird mit der besonderen Stoffwechsellage der Tumorzellen und ihrem überstürzten Wachstum in Verbindung gebracht (HAMPERL, 1956; GRAFFI und BIELKA, 1959). Obwohl es für einen kausalen Zusammenhang zwischen multipolaren Mitosen und Zelltransformation bisher keine sicheren Anhaltspunkte gibt, weisen einige Autoren indes daraufhin, daß die Veränderung der Chromosomenzahl durch den Vorgang der mehrpoligen Zellteilung möglicherweise doch als Ursache bösartiger Geschwülste anzusehen sei (Übersicht bei SWANSON, 1960). TEPLITZ et al. (1968) diskutieren die mögliche Bedeutung der zufallsbedingten Chromosomenverteilung bei multipolaren Mitosen für die Onkogenese, und MAINI und STICH (1961) sehen in dem Zusammentreffen von Proliferationssteigerung und Mitosestörung die entscheidende Voraussetzung für die Ausbildung genetisch heterogener Zellpopulationen, von denen die Tumoren letztlich ausgehen sollen.

Boveris These, multipolare Mitosen führten zu einer ungeordneten Aufteilung des genetischen Materials und seien aus diesem Grunde als pathologische Vorgänge - wenn nicht sogar als Ursache der Krebsentstehung - zu betrachten, blieb jedoch trotz ihrer wiederholten Bestätigung durch andere Autoren nicht lange unwidersprochen. Den ersten Hinweis auf eine möglicherweise nach vollständigen haploiden Chromosomensätzen geordnete Verteilung der Chromosomen multipolarer Mitosen lieferte BALTZER (1909). Er beobachtete, wie sich nach dreipoligen Mitosen dispermer (also triploider) Seeigeleier normale - wahrscheinlich diploide - Larven entwickelten. KOSTANECKI (1911) beschrieb die multipolare

Mitose schließlich als "Regulationsvorgang, durch den das angesammelte Chromosomenmaterial successiv auf eine größere Anzahl von Kernen ungefähr gleichmäßig verteilt wird." RUTISHAUSER (1963), der beim Walker-Sarkom Zellen mit fast vollständigen triploiden Chromosomensätzen fand, führte die Entstehung dieser Zellen auf multipolare Mitosen zurück. Hinweise auf die Entstehung euploider Tochterzellen multipolarer Mitosen finden sich auch bei anderen Autoren (WOLL, 1953; TEPLITZ et al., 1968; CITOLER et al., 1969; HENEEN et al., 1970).

Genauere Analysen multipolarer Mitosen und ihrer euploiden Tochterkerne wurden von PERA und SCHWARZACHER (1969), SCHWARZACHER und PERA (1969), PERA (1970), PERA und RAINER (1973, 1974) und PERA und SCHOLZ (1974) an Gewebekulturen der Erdmaus (Microtus agrestis) durchgeführt. In diesen Zellen stellt die multipolare Mitose einen R e d u k t i o n s m e c h a n i s m u s dar, durch den die Chromosomen polyploider Zellen nach vollständigen Chromosomensätzen geordnet auf mehrere Tochterkerne verteilt werden, deren Ploidie folglich kleiner ist als die der Mutterzelle. Dieser Reduktionsmechanismus konnte auch in euploiden Zellkulturen vom Rhesusaffen (Macaca mulatta) beschrieben werden (PALITTI und RIZZONI, 1972; RIZZONI et al., 1974).

Die Befunde von PALITTI und RIZZONI (1972) und die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse unterstreichen, daß die multipolare Mitose weder allein als "pathologische Mitose" mit aneuploider Chromosomenverteilung im Sinne BOVERIS noch ausschließlich als Mechanismus einer nach vollständigen haploiden Chromosomensätzen geordneten somatischen Reduktion des genetischen Materials gewertet werden kann: In Zellen einer a n e u p l o i d e n Kultur konnten PALITTI und RIZZONI (1972) eine nach vollständigen Chromosomensätzen geordnete Verteilung der Chromosomen mehrpoliger Teilungsfiguren n i c h t nachweisen; hier fanden sich nur aneuploide Tochterzellen. In e u p l o i d e n Zellen dagegen bewirkten fast alle multipolaren Mitosen eine Verteilung vollständiger haploider Chromosomensätze oder ganzzahliger Vielfacher davon auf die Tochterkerne. Die in dieser Arbeit an euploiden und aneuploiden Zellen erhobenen Befunde bestätigen diese Beobachtungen.

Es besteht allgemein kaum Zweifel daran, daß in malignem Tumorgewebe und in aneuploiden Zellkulturen (möglicherweise auch in vielen euploiden Geweben) die Aufteilung der Chromosomen multipolarer Mitosen nach dem Gesetz des Zufalls erfolgen und zur Entstehung aneuploider Tochterkerne führen kann. In euploiden Gewebekulturen von Microtus agrestis jedoch stellt die multipolare Mitose einen Regulationsmechanismus dar, durch den die Zelle im Fall der Überpolyploidisierung ihr genetisches Material nach vollständigen Chromosomensätzen geordnet auf mehrere Tochterkerne verteilen kann. Euploide Zellen der Erdmaus erweisen sich somit als ideale Studienobjekte für genauere Untersuchungen der somatischen Reduktion und Segregation durch multipolare Mitosen.
OHNO (1966), SINHA (1967), TEPLITZ et al. (1968), PERA und SCHWARZACHER (1968, 1969), MARTIN und SPRAGUE (1969), PERA (1970), PERA und RAINER (1974) und PERA und SCHOLZ (1974) weisen daraufhin, daß neben der nach kompletten Chromosomensätzen geordneten R e d u k t i o n des genetischen Materials die Bildung genetisch ungleichwertiger Tochterkerne (somatische S e g r e g a t i o n) ein zweiter, wichtiger Effekt der multipolaren Mitose ist. Es ist sogar denkbar, daß die multipolare Mitose für weiterführende genetische Untersuchungen (gen-mapping u.ä.) dadurch große Bedeutung erlangen könnte, daß neben der somatischen Segregation vollständiger haploider Chromosomensätze mit jeder mehrpoligen Zellteilung auch gleichzeitig eine Neukombination der einzelnen Chromosomensätze durch Chromosomenaustausch erfolgt (MARTIN und SPRAGUE, 1969), wofür jedoch noch keine direkten Hinweise vorliegen (vgl. auch Kap. IV.13.). Dieser noch hypothetische Mechanismus des Austauschs homologer Chromosomen verschiedener haploider Sätze mit nachfolgender Segregation der neukombinierten, jedoch vollständigen Chromosomensätze würde zu einer großen Zahl in ihrem genetischen Material verschiedener Tochterkerne multipolarer Mitosen führen.

V. Zusammenfassung

Ein- und mehrkernige Lungenfibroblasten aus einer euploiden und einer aneuploiden Gewebekultur weiblicher Erdmäuse (Microtus agrestis) wurden bis zu mehreren Tagen unter dem Phasenkontrastmikroskop verfolgt. Der relative DNS-Gehalt ihrer Tochter- bzw. Enkelzellen wurde cytophotometrisch bestimmt.
Die Lebendbeobachtungen und cytophotometrischen Untersuchungen dienten dem Ziel, Aussagen über Ploidie und Schicksal der Tochter- und Enkelzellen multipolarer Mitosen machen zu können.

1) Der Begriff 'multipolare Mitose' wird häufig synonym für mehrpolige (= mehrere Spindelpole) und für mehrstrahlige (= mehrere Äquatorialplatten) Metaphasenfiguren verwendet. Wie die Lebendbeobachtung jedoch zeigte, muß zwischen m e h r p o l i g e n und m e h r s t r a h l i g e n Mitosen unterschieden werden, da sich einerseits mehrpolige Teilungsfiguren mit einstrahligen, scheinbar bipolar orientierten Äquatorialplatten fanden, und andererseits mehrstrahlige Metaphasenfiguren mit nur zwei Polen beobachtet werden konnten.
In der Lebendbeobachtung zeigte sich fernerhin, daß kurz vor Beginn der Anaphase die Konfiguration (d.h. die Anzahl der Strahlen bzw. Äquatorialplatten) polyploider mitotischer Teilungsfiguren eine ganz andere sein kann als noch während der Prometaphase und der frühen Metaphase erkennbar war: So können im Lauf der prometaphasischen Spindelbildung ursprünglich mehrstrahlige Figuren einstrahlig werden und umgekehrt. In fixierten, nicht lebendbeobachteten Präparaten sollte deshalb die Bezeichnung 'multipolare Mitose' bzw. 'mehrstrahlige Mitose' nur mit Einschränkung verwendet werden, solange sich die Zelle noch nicht in der späten Metaphase bzw. frühen Anaphase befindet, wo eindeutige Aussagen erst möglich werden.

2) Die Häufigkeit zweikerniger Zellen schwankte in den untersuchten Kulturen zwischen 5.5 % und 8.4 %. Zweikernige Zellen können durch Schwester- und Nicht-Schwester-Zellfusion und durch ausbleibende Cytoplasmateilung nach bi- und multipolaren Mitosen entstehen. Eine Entstehung zweikerniger Zellen durch amitotische Kernteilung konnte jedoch nicht beobachtet werden: Pseudo-amitotische Kerneinschnürungen (die nicht selten nach Fusion von Telophaseteilen multipolarer Mitosen gesehen wurden) schließen eine mitotische Kernteilung nicht aus. Die Ploidie der beobachteten zweikernigen Zellen reichte vom diploiden bis in den hoch-polyploiden Bereich, wobei sich tetraploide zweikernige Zellen besonders häufig (43.4 %) fanden.

3) Die Mitose zweikerniger Zellen dauerte mit ca. 100 Minuten fast doppelt so lang wie die Mitose einkerniger Zellen. Zwischen bipolaren und multipolaren Mitosen zweikerniger Zellen konnten keine zeitlichen Unterschiede festgestellt werden.

4) In 89.7 % der in der Lebendbeobachtung verfolgten zweikernigen Zellen fand sich ein synchroner, in 10.3 % ein asynchroner Prophasebeginn.
Synchroniedifferenzen im Mitosegeschehen der beiden Kerne einer zweikernigen Zelle waren nie länger als bis zum Ende der Prophase zu erkennen; dabei konnte der weiter fortgeschrittene Kern eines asynchronen prophasischen Kernpaares ohne Verzögerung bis ans Ende der Prophase gelangen, jedoch blieb die Auflösung der Kernmembranen solange aus, bis auch der im Mitosegeschehen zurückgebliebene Kern dasselbe Stadium (erkennbar am Grad der Chromosomenkondensierung) erreicht hatte. Erst jetzt erfolgte der synchrone Zusammenbruch beider Kernmembranen.
In zweikernigen Zellen, deren Kerne zu Beginn der Mitose durch einen schmalen Cytoplasmastreifen ("internukleärer Spalt") voneinander getrennt waren, wurde ein asynchroner Prophasebeginn häufiger (14.8 %) beobachtet als in Kernpaaren ohne internukleären Spalt (10.8 %). In der Regel war der internukleäre Spalt schon nach wenigen Prophaseminuten lichtmikroskopisch nicht mehr zu erkennen. Blieb er jedoch während der Prophase bestehen, so erfolgte keine

Auflösung der Kernmembranen. Der Stopp des Mitosegeschehens vor Beginn der Prometaphase wurde nur dann aufgehoben, wenn der internukleäre Spalt verschwand; andernfalls endeten die Mitosen häufig vorzeitig mit dem Tod der Zelle. (Für diese Beobachtungen sollten u.a. auch licht- und/oder hitzebedingte Schädigungen der mitotischen Zelle in Erwägung gezogen werden.)
Diese Befunde werden dahingehend interpretiert, daß in zweikernigen Fibroblasten der Erdmaus ein enger Kernkontakt (d.h. das Fehlen eines lichtmikroskopisch erkennbaren internukleären Spaltes) weniger für den hohen Synchroniegrad zu Beginn der Prophase als vielmehr für den kontinuierlichen Übergang von der Prophase zur Prometaphase - also für die Bildung einer gemeinsamen Prometaphasenfigur nach Zusammenbruch der Kernmembranen - Voraussetzung zu sein scheint.
Mit wachsender Asynchronie des Prophasebeginns zweikerniger Zellen nahmen sowohl Prophase- als auch Mitosedauer zu: Zweikernige Zellen mit synchronem Prophasebeginn wiesen weit kürzere Prophasezeiten auf (20.96 $\pm$ 7.9 min) als zweikernige Zellen mit asynchronem (28.1 $\pm$ 12.5 min) bzw. stark asynchronem Prophasebeginn (40.8 $\pm$ 2.1 min). Ein internukleärer Spalt zwischen den asynchronen Prophasekernen zweikerniger Zellen verlängerte die Prophasedauer jedoch nicht. Die Mitosedauer ursprünglich asynchroner Kernpaare m i t internukleärem Spalt war sogar geringfügig kürzer (104 $\pm$ 11 min) als diejenige asynchroner Kernpaare o h n e internukleären Spalt (119.4 $\pm$ 32.5 min).

5) Spindelpole multipolarer Mitosen können so nahe nebeneinanderliegen, daß gegen Ende der Mitose die Fusion der zugehörigen Telophasenteile ('Kernfusion') zu einem Zellkern möglich ist.

6) In der Lebendbeobachtung konnten unterschiedliche Konfigurationen multipolarer Teilungsfiguren unterschieden werden: Parallelmitosen, Parallelmitosen mit zweistrahliger bzw. in der Mitte eingeknickter Metaphasenfigur ("V-Mitosen"), drei- und vierstrahlige Mitosen, pseudotripolare und -quadripolare Mitosen und Metaphasenfiguren, die aus zwei übereinanderliegenden bipolaren Spindelfiguren bestanden ("Etagenmitosen").

7) Bei Entstehung mehrpoliger Spindelfiguren folgen die Chromosomen nicht immer demselben Bewegungsschema. Aufgrund der Lebendbeobachtungen lassen sich hier wenigstens vier Varianten unterscheiden:

a) "Direkte" Bildung: sofortiges Konfluieren der Prometaphase-Chromosomen zur definitiven mehrpoligen Metaphasenfigur.

b) "Sukzessive" Bildung: Bildung der einzelnen Strahlen mehrstrahliger Figuren in aufeinanderfolgenden Etappen.

c) Bildung in mehreren Schritten: Aus einer vorläufigen (Pro-) Metaphasenfigur gehen schließlich endgültige Spindelfiguren mit m e h r bzw. mit w e n i g e r Strahlen als in der Prometaphase erkennbar waren hervor; die Verringerung der Strahlenzahl prometaphasischer Intermediärfiguren wurde häufiger (n = 10) beobachtet als die Vermehrung der Strahlenzahl bis zur Ausbildung der endgültigen Metaphasenfigur (n = 1)

d) Bildung mehrpoliger Mitosen über ein "Hohlspindel"-Zwischenstadium.
Die in mehreren optischen Ebenen durchgeführten Lebendbeobachtungen lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß es sich beim Übergang von der sog. Hohlspindelformation zur mehrstrahligen Metaphasenfigur nicht um das Kippen einer senkrecht zur Beobachtungsebene stehenden bipolaren Spindelfigur handelt, sondern daß hier ein Konfluieren der Chromosomen vorliegt, das als direkte Folge der aus dem Kreismittelpunkt der Hohlspindelfigur nach draußen gerichteten Centriolenbewegungen interpretiert werden kann.

Die Bildung einer "two-group metaphase" einer zweikernigen Zelle wurde beobachtet: diese Metaphase bestand aus einer dreistrahligen Haupt- und einer kleineren einstrahligen Nebenfigur. Drei einkernige Tochterzellen gingen aus der Mitose hervor.

8) 32 zweikernige Zellen und deren Tochter- und Enkelzellen wurden bis zu einem Zeitraum von drei Tagen beobachtet. Die Langzeitbeobachtungen ergaben, daß Tochterzellen multipolarer Mitosen lebens- und teilungsfähig sind; die Tochterzellen multipolarer Mitosen bilden ihrerseits wiederum häufig (57.7 %) mehr-

polige Spindelfiguren. Das in wenigen Fällen beobachtete Absterben einzelner oder aller Tochterzellen mehrpoliger Mitosen wird mit ungünstigen Beobachtungsbedingungen (Licht- und/oder Temperatureinfluß) erklärt.
Die Lebendbeobachtung zeigte, daß sich die Zellzyklen von Tochterzellen bipolarer (15.21 ± 2.68 h) und multipolarer Mitosen (15.45 ± 5.34 h) zweikerniger Zellen nicht wesentlich unterscheiden; auch Zellzyklen ein- und mehrkerniger Zellen mit bipolaren (15.11 ± 3.76 h) und multipolaren Spindeln (15.39 ± 4.88 h) zeigen keine großen zeitlichen Differenzen. Es finden sich jedoch Zellzyklusdifferenzen zwischen vergleichbaren Zellkollektiven der euploiden und der aneuploiden Kultur.
Die Entstehung kernloser Cytoplasmapartikel konnte beobachtet werden; ihre Lebensfähigkeit ist auf wenige Stunden begrenzt.

9) Es besteht ein Zusammenhang zwischen Mehrkernigkeit, Aneuploidie und Polyploidie auf der einen und dem Auftreten mehrpoliger Teilungsfiguren auf der anderen Seite: Während in einer Zufallsstichprobe von 280 einkernigen Zellen nur 3.2 % der Zellen multipolare Mitosen bildeten, fand sich in 56.7 % aller zweikernigen Zellen eine mehrpolige Anordnung des Spindelapparates. Auch in den Tochterzellen multipolarer Mitosen (57.7 %), in polyploiden Zellen (58.9 %) und insbesondere in hoch-polyploiden Zellen (85.7 %) war der Anteil mehrpoliger Teilungsfiguren deutlich erhöht. Der Prozentsatz multipolarer Mitosen war in der aneuploiden Kultur wesentlich höher als in den entsprechenden Kollektiven der euploiden Kultur.

10) In der Diskussion wird ein Überblick über die verschiedenen theoretisch möglichen Entstehungsursachen mehrpoliger Mitosen gegeben. Dabei wird in Erwägung gezogen, daß die Bildung multipolarer Mitosen einerseits durch zahlreiche Zelleigenschaften und Ereignisse (erhöhte Centriolenzahl in polyploiden Zellen und in Tochterzellen multipolarer Mitosen, Ein-subunit-Pole, zusätzliche potentielle Poldeterminanten infolge asynchroner Centriolen- und/oder Zellkernzyklen, de novo-Bildung von Centriolen, Umwandlung von Basalkörperchen zu Centriolen, pericentrioläres Material als Poldeterminante, "Spindelbruch") begünstigt -

andererseits aber durch ein noch hypothetisches, die Bipolarität anstrebendes intrazelluläres Ordnungssystem eingeschränkt sein könnte.
Sofern ihre Erörterung im Rahmen der gegenwärtig diskutierten Modelle der Spindelbildung erfolgt, gestatten die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse keine eindeutigen Aussagen über den Entstehungsmechanismus multipolarer Mitosen; es lassen sich bei der Auswertung der Befunde sowohl Widersprüche als auch Übereinstimmungen mit wesentlichen Punkten jedes Modells feststellen.
Aufgrund der vorgelegten, je nach Modell unterschiedlich interpretierten Ergebnisse läßt sich jedoch feststellen, daß multipolare Spindelfiguren mit großer Wahrscheinlichkeit nicht allein durch die in polyploiden Zellen erhöhte Centriolenzahl bedingt sind, wie dies immer wieder vermutet wurde. Vielmehr muß in Erwägung gezogen werden, daß der tatsächliche Entstehungsmechanismus (mehrpoliger) Mitosen möglicherweise aus einer Kombination verschiedener, in der Regel jeweils gesondert betrachteter Modelle besteht, wie z.B. in einem Modell, in dem die Spindelorganisation von Centriolen u n d Kinetochoren u n d dem die Bipolarität fördernden intrazellulären Ordnungsprinzip ausgeht.

11) Die durch die cytophotometrische Bestimmung des relativen DNS-Gehalts ermittelte Ploidie der Tochter k e r n e multipolarer Mitosen war in der Mehrzahl (88.1 %) der beobachteten Zellen geringer als die Ploidie der (häufig zweikernigen) Mutterz e l l e ; im Gegensatz zu bipolaren Mitosen führen multipolare Mitosen somit zu einer somatischen Reduktion. Da jedoch der Reduktionseffekt multipolarer Mitosen durch Kernfusion bzw. Fusion von Telophaseteilen und durch die Entstehung mehrkerniger Tochterzellen zumindest teilweise wieder aufgehoben wurde, fand sich eine "echte" somatische Reduktion (d.h. Ploidie der Tochterz e l l e kleiner als Ploidie der Mutter z e l l e) nur in 63.3 % aller Tochterzellen multipolarer Mitosen; in 9.2 % der Tochterzellen war die Ploidie sogar größer als die der Mutterzelle (somatische Polyploidisierung).

Damit erweist sich die multipolare Mitose als ein Regulationsmechanismus, der es einer polyploiden (und in Ausnahmefällen auch diploiden) Zelle ermöglicht, ihre ursprüngliche, durch Zellfusion, ausbleibende Cytokinese etc. veränderte Ploidiestufe wiederzuerlangen.
In der euploiden Kultur wurden die Chromosomen bi- und multipolarer Mitosen in der Regel nach vollständigen haploiden Sätzen oder ganzzahligen Vielfachen davon geordnet auf die Tochterkerne verteilt; nur in 5.5 % führten multipolare Mitosen zu einer nicht nach vollständigen Chromosomensätzen geordneten Verteilung des genetischen Materials. In der aneuploiden Kultur fand sich in 43.2 % der Mitosen eine nach ganzzahligen Vielfachen des 1c-Wertes geordnete Verteilung des chromosomalen Materials; in 56.8 % war diese Verteilung ungeordnet.
Die Verteilungsmodi des genetischen Materials multipolarer Mitosen lassen einen großen Variantenreichtum erkennen. Die Feststellung, jede Ploidieklasse habe ihren bevorzugten Verteilungsmodus (PALITTI und RIZZONI, 1972), kann nicht bestätigt werden.
Unter den Tochterzellen multipolarer Mitosen fanden sich auch einkernige haploide Zellen, die lebensfähig waren; haploide Mitosen konnten jedoch nicht beobachtet werden. In der Mehrzahl der Fälle lagen haploide Tochterkerne multipolarer Mitosen allerdings in mehrkernigen Zellen; in diesem Fall schien ihre Teilungsfähigkeit erhalten zu sein.

12) In der Diskussion wird ein Überblick über die Effekte der multipolaren Mitose (somatische Reduktion und somatische Segregation) sowie über Vorkommen und künstliche Erzeugung mehrpoliger Spindelfiguren gegeben. Entstehung und Bedeutung multipolarer Mitosen werden diskutiert. Das Phänomen der Kernsynchronie in mehrkernigen Zellen und Synzytien wird besprochen.

VI. Literaturverzeichnis

Aaronson, R.P., Blobel, G.: Isolation of nuclear pore complexes in association with a lamina. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 72, 1007-1011 (1975).

Altmann, H.-W.: Ein Beitrag zur Pathologie des cellulären Zentralapparates. Nach Beobachtungen an einem Hirntumor. Virchows Arch. path. Anat. 334, 132-159 (1961).

Altmann, H.-W.: Zur Kenntnis der Kerngestalt, des Cytozentrum und der Mitosestörungen in Sternbergschen Riesenzellen. Klin. Wschr. 42, 1117-1122 (1964).

Altmann, H.-W.: Der Intermitose-Kern. In: Grundlagen der Cytologie (Hirsch, G.C., Ruska, H., Sitte, P., Hrsg.), Stuttgart: Gustav Fischer (1973).

Amlacher, E.: Autoradiographie in Histologie und Cytologie. Stuttgart: Gustav Fischer (1974).

Appels, R., Bell, P.B., Ringertz, N.R.: The first division of HeLa - chick erythrocyte heterokaryons. Exp.Cell Res 92, 79-86 (1975).

Arnold, J.: Beobachtungen über Kernteilungen in den Zellen der Geschwülste. Virchows Arch. path. Anat. 78, 279-301 (1879).

- Beobachtungen über Kerne und Kernteilungen in den Zellen des Knochenmarks. Virchows Arch. path. Anat. 93, 1-38 (1883).

Arrighi, F.E., Hsu, T.C.: Localization of heterochromatin in human chromosomes. Cytogenetics 10, 81-86 (1971).

Ashly, T., Wagenaar, E.B.: Telomeric association of gametic and somatic chromosomes in diploid and autotetraploid Ornithogalum virens. Canad. J. Genet. Cytol. 16, 61-76 (1974).

Assel, S. van, Brachet, J.: Formation des cytasters dans les oeufs de Batraciens sous l'action de l'eau lourde. J. Embryol. exp. Morph. 16, 143-151 (1966).

Atkin, H.B., Mattinson, G., Baker, M.C.: A comparison of the DNA content and chromosome number of fifty human tumors. Br. J. Cancer 20, 87-101 (1966).

Avivi, L., Feldman, M., Bushuk, W.: The mechanism of somatic association in common wheat, Triticum aestivum: I. Suppression of somatic association by colchicin. Genetics 62, 745-752 (1969).

Avivi, L., Feldman, M., Bushuk, W.: The mechanism of somatic association in common wheat, Triticum aestivum L.: III. Differential affinity for nucleotides of spindle microtubules of plants having different doses of somatic-association suppressor. Genetics 66, 449-461 (1970).

Bahr, G.F., Engel, W.F.: Association of centrioles and chromosomes observed in preparations of whole-mounted human chromosomes. Chromosoma (Berl.) 63, 295-303 (1977).

Bajer, A.: Absolute viscosity and living mitotic spindle structure. Acta Soc. Bot. Pol. 22, 331-348 (1953).

- Cine-micrographic studies on mitosis in endosperm. Acta Soc. Bot. Pol.23, 383-412 (1954).
- Cine-micrographic studies on mitosis in endosperm. V. Formation of the metaphase plate. Exp. Cell Res. 15, 370 - 383 (1958).
- A note on the behavior of spindle fibres in living cells. Chromosoma (Berl.) 12, 64-71 (1961).
- Observations on dicentrics in living cells. Chromosoma (Berl.) 14, 18-30 (1963).
- Behaviour of chromosomal spindle fibres in living cells. Chromosoma (Berl.) 16, 381-390 (1965a).
- Cine-micrographic analysis of cell plate formation in endosperm. Exp. Cell Res. 37, 376-398 (1965b).
- Morphological aspects of normal and abnormal mitosis. In: Sitte, P.: Probleme der biologischen Reduplikation, S. 90 - 119. Berlin: Springer (1966).
- Notes on ultrastructure and some properties of transport within the living mitotic spindle. J. Cell Biol. 33, 713-720 (1967).
- Behavior and fine structure of spindle fibres during mitosis in endosperm. Chromosoma (Berl.) 25, 249-281 (1968).
- Allen, R.D.: Structure and organization of the living mitotic spindle of Haemanthus endosperm. Science 151, 572-574 (1966).

Bajer, A., Molé-Bajer, J.: Cine-micrographic studies on mitosis in endosperm. II. Chromosome, cytoplasmic and Brownian movements. Chromosoma (Berl.) 7, 558-607 (1956).

- - UV-microbeam irradiation of chromosomes during mitosis in endosperm. Exp. Cell Res. 25, 251-267 (1961).

- - Formation of spindle fibres, kinetochore orientation, and behavior of the nuclear envelope during mitosis in endosperm. Fine structural and in vitro studies. Chromosoma (Berl.) 27, 448-484 (1969).

- - Spindle dynamics and chromosome movements. Int. Rev. Cytol. (Suppl.) 3, 1-271 (1972).

Balbiani, E.G.: Sur les phénomènes de la division du noyau cellulaire. C.R. Acad. Sci. (Paris) 83, 831-834 (1876).

Baltzer, F.: Über mehrpolige Mitosen bei Seeigeleiern. Verh. med.-phys. Ges., Würzburg 39, 291-330 (1908).

- Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus. Arch. Zellforsch. 2, 549-632 (1909).

Bannasch, P.: Die Cytologie der Hepatocarcinogenese. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VI/7 (Geschwülste III), S. 123-276. Berlin: Springer (1975).

Barasa, A., Godina, G., Tizzani, L.: Mitoses de cellules binucléés in vitro (1). C.R. Ass. Anat. 52, 179-183 (1967).

Barber, H.N., Callan, H.G.: The effect of cold and colchicine on meiosis in the newt. Proc. roy. Soc. B 131, 258 (1943).

Barthelmess, A.: Chemisch induzierte multipolare Mitosen. Protoplasma 48, 546-561 (1957).

Bataillon, E., Tchou-Su, M.: Analyse de la fécondation chez les batraciens par l'hybridation et la polyspermie physiologique. Arch. Entwickl.-Mech. Org. 115, 779-824 (1929).

Beadle. G.W., McClintock, B.: A genetic disturbance of meiosis in Zea mays. Science 68, 433 (1928).

Beams, H.W.: The effects of ultracentrifuging upon the meiotic chromosomes of the male grasshopper, Melanoplus differentialis J. Morph. 83, 87-103 (1948).

- King, R.L.: An experimental study on mitosis in the somatic cells of wheat. Biol. Bull. 75, 189-207 (1938).

Beams, H.W., Mueller, S.: Effects of ultracentrifugation on the interphase nucleus of somatic cells with special reference to the nuclear-envelope chromatin relationship. Z. Zellforsch. 108, 297-308 (1970).

Belar, K.: Über die reversible Entmischung lebenden Plasmas. Protoplasma 9, 209-244 (1930a).

- Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. III. Untersuchungen an den Staubfadenhaaren und Blattmeristemzellen von Tradescentia virginica. Z.Zellforsch. 10, 73-134 (1930b).

Belling, J.: The attachements of chromosomes and the reduction division in flowering plants. J. Genet. 18, 177 (1927).

Benbabis, M.-C., Ribsztejn, M., Deysson, G.: The mode of nuclear DNA synthesis in experimentally induced binucleate cells of root meristems. Chromosoma (Berl.) 46, 1-11 (1974).

Beneden, E. van: Recherches sur les Dicyemides. Bull. Acad. roy. Méd. Belg., Ser. II, 41, 1160-1205 (1876).

- Recherches sur la maturation de l'oeuf. La Fécondation et la Division Céllulaire. Paris: Masson (1883).
- Neyt, A.: Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitotique chez l'Ascaride mégalocéphale. Bull. Acad. roy. Méd. Belg., Ser.III, 215-295 (1887).

Berezney, R., Coffey, D.S.: Identification of a nuclear protein matrix. Biochem. biophys. Res. Comm. 60, 1410-1417 (1974).

Berger, C.A.: Multiplication and reduction of somatic chromosome groups as a regular developmental process in the mosquito, Culex pipiens. Contr. Embryol. Carneg. Instn. Wash. Publ. No 496, 167, 209-232 (1938).

- Multiple chromosome complexes in animals and polysomaty in plants. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 19-21 (1941).

Berns, M.W., Rattner, J.B., Brenner, S., Meredith, S.: The role of the centriolar region in animal cell mitosis. A Laser microbeam study. J. Cell Biol. 72, 351-367 (1977).

- Richardson, S.M.: Continuation of mitosis after selective Laser microbeam destruction of the centriolar region. J. Cell Biol. 75, 977-982 (1977).

Bessis, M., Breton-Gorius, J., Thiéry, J.: Centriole, corps de Golgi et aster des leucocytes. Etudes au microscope élec-

tronique. Rev. Hémat. 13, 363-386 (1958).

Bier, K.: Somatische Polyploidie bei Tieren. Struktur und Funktion der Riesenchromosomen. In: Grundlagen der Cytologie (Hirsch, G.C., Ruska, H., Sitte, P., Hrsg.), Stuttgart: Gustav Fischer (1973).

Biesele, J.J.: Mitotic poisons and the cancer problem. Amsterdam: Elsevier Publ. Co. (1958).

Bloom, S.: Chromosome abnormalities in chicken (Gallus domesticus) embryos: types, frequencies and phenotypic effects. Chromosoma (Berl.) 37, 309-326 (1972).

Böök, J.A.: Cytological studies in Triton. Hereditas (Lund) 31, 177-220 (1945).

Borghese, E., Rondanelli, E.G., Strosselli, E.: Osservazioni microcinematografiche sulla formazione di cellule binucleate. Z. Anat. Entw.-Gesch. 118, 523-530 (1955).

Borisy, G.G., Gould, R.R.: Microtubule-organizing centers of the mitotic spindle. In: Mitosis - facts and questions (Little, M., Paweletz, N., Petzelt, C., Ponstingl, H., Schroeter, D., Zimmermann, H.-P., eds.), Berlin: Springer (1977).

Bosman, F.T., Groen, F.C.A., van der Ploeg, M.: DNA content and chromosome number of a heteroploid human tumor cell line. Histochemistry 60, 181-188 (1979).

Boss, J.: The ultrastructure of chromosomes and their behaviour in living cells. J. Anat. 93, 581 (1959).

Boveri, T.: Zellen-Studien. Heft 1. Jena: G. Fischer (1887).

- Über die Befruchtung der Eier von Ascaris megalocephala. Sitzgsber. Ges. Morph. Physiol. München 3, 71.80 (1887b).
- Zellen-Studien. Heft 2. Jena: G. Fischer (1888).
- Zellen-Studien. Heft 3. Jena: G. Fischer (1890).
- Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. Verh. phys.-med. Ges. Würzburg 35, 67-90 (1903).
- Zellen-Studien. Heft 6. Jena: G. Fischer (1907).
- Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena: G. Fischer (1914).

Bowen, R.H.: Notes on the occurence of abnormal mitoses in spermatogenesis. Biol. Bull. 43, 184-202 (1922).

Braten, T., Nordby, O.: Ultrastructure of meiosis and centriole behaviour in Ulva mutabilis (Foyn). J. Cell Sci. 13, 69-81 (1973).

Brenner, S., Branch, A., Meredith, S., Berns, M.W.: The absence of centrioles from spindle poles of rat kangaroo (PtK_2) cells undergoing meiotic like reduction division in vitro. J. Cell Biol. 72, 368-379 (1977).

Brinkley, B.R., Stubblefield, E.: Ultrastructure and interaction of the kinetochore and centriole in mitosis and meiosis. In: Advances in cell biology (Prescott, D.M., Goldstein, L., McConkey, E., eds.) 1, 119-185 (1970).

- - Hsu, T.C.: The effects of colcemid inhibition and reversal on the fine structure of the mitotic apparatus of Chinese Hamster cells in vitro. J. Ultrastruct. Res. 19, 1-18 (1967).

Bucciante, L.: Influenza di temperature molto basse su mitosi di culture "in vitro". Formazione di cellule binucleate. Protoplasma 5, 142-157 (1929).

Bucher, O.: Gibt es eine Amitose? Z. mikr.-anat. Forsch. 64, 100-109 (1958a).

- Zur Entstehung zweikerniger Zellen in Bindegewebekulturen. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Amitose. Z. mikr.-anat. Forsch. 64, 174-191 (1958b).

- Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle. Protoplasmatologia VI/E/1. Wien: Springer (1959).

- Zum Problem der Amitose. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/2 (Der Zellkern I), S. 626-699. Berlin: Springer (1971).

Buck, C.A., Granger, G.A., Holland, J.J.: Initiation and completion of mitosis in HeLa cells in the absence of protein synthesis. Curr. med. Biol. 1, 9-13 (1967).

Bütschli, O.: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Konjugation der Infusorien. Abh. Senckenberg. naturforsch. Ges. 10 (1876).

Burgos, M.H., Fawcett, D.W.: Studies on the fine structure of the mammalian testis. I. Differentiation of the spermatids

in the cat (Felis domestica). J. Biophys. Biochem. Cytol. 1, 287-300 (1955).

Carr, D.H.: Chromosome abnormalities and spontaneous abortions. In: Human population cytogenetics (Jacobs, P.A., Price, W.H., Law, P., eds.) S. 103-118. Edinburgh: University of Edinburgh (1970).

Carter, S.B.: Effects of cytochalasine on mammalian cells. Nature 213, 261-264 (1967).

Chowdaiah, B.N.: A note on the occurence of chromatid bridges in the male of Arthrosphaera Sp., a pill-millipede. Curr. Sci. (India) 38, 169 (1969).

Chu, E.H.Y., Giles, N.H.: Comparative chromosomal studies on mammalian cells in culture. I. The HeLa strain and its mutant clonal derivatives. J. Nat. Cancer Inst. 20, 383 (1958).

Church, K.: Pattern of DNA replication in binucleate cells occuring in mouse embryo cell cultures. Exp. Cell Res. 46, 639-641 (1967).

Citoler, P., Pera, F., Schwarzacher, H.G.: Cytologische Untersuchungen an einem menschlichen Abortus mit vorwiegend tetraploiden Zellen in vitro. Humangenetik 7, 109-118 (1969).

Clay, W.F., Katterman, F.R.H., Bartels, P.G.: Chromatin and DNA-synthesis associated with nuclear membrane in germinating cotton. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 72, 3134-3138 (1975).

Cleveland, L.R.: Hormone induced sexual cycles of flagellates. XIII. Unusual behavior of gametes and centrioles of Barbulanympha. J. Morph. 97, 511-541 (1955).

- Functions of flagellate and other centrioles in cell reproduction. In: The cell in mitosis (Levine, L., ed.), S. 3-53. New York: Academic Press (1963).

Comings, D.E.: The rationale for an ordered arrangement of chromatin in the interphase nucleus. Amer. J. hum. Genet. 20, 440-460 (1968).

- The structure and function of chromatin. Advanc. hum. Genet. 3, 237-431 (1972).

Comings, D.E., Okada, T.A.: Association of nuclear membrane fragments with metaphase and anaphase chromosome as observed by whole mount electron microscopy. Exp. Cell Res. 63, 62-68 (1970).

Cone, C.D.jr.: Autosynchrony and self-induced mitosis in sarcoma cell network. Acta cytol. (Philad.) 13, 576-582 (1969).

Connolly, J.A., Kalnins, V.I.: Visualization of centrioles and basal bodies by fluorescent staining with nonimmune rabbit sera. J. Cell Biol. 79, 526-532 (1978).

- - Cleveland, D.W., Kirschner, M.W.: Immunofluorescent staining of cytoplasmic and spindle microtubules in mouse fibroblasts with antibody to tau protein. Proc. nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 74, 2437-2440 (1977).

- - - - Intracellular localization of the high molecular weight microtubule accessory protein by indirect immunofluorescence. J. Cell Biol. 76, 781-786 (1978).

Costello, D.P.: On the orientation of centrioles in dividing cells, and its significance: a new contribution to spindle mechanics. Biol. Bull. 120, 285-312 (1961).

- Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 67, 1951 (1970); zit. nach Takayama (1975).

Crane, M.St.J., Clarke, J.B., Thomas, D.B.: Cell cycle dependent changes in morphology. Exp. Cell Res. 107, 89-94 (1977).

Cremer, T., Zorn, C., Cremer, C., Zimmer, J.: Formation of viable cell fragments by treatment with colchicine. Exp. Cell Res. 100, 345-355 (1976).

Cuellar, O., Uyeno, T.: Triploidy in rainbow trout. Cytogenetics 11, 508-515 (1972).

Darlington, C.D.: The external mechanics of chromosomes. Proc. roy. Soc. B. 121, 264 (1936).

- Recent Advances in Cytology. 2nd Ed., London: Churchill (1937).

Davis, B.M.: Ann. Botany (London) 15, 147 (1901); zit. nach Luykx (1970).

Deaven, L.L., Petersen, D.F.: In: Methods in Cell Biology (Prescott, D.M. ed.), S. 179-204. New York: Academic Press (1974).

DeHarven, E.: The centriole and the mitotic spindle. In: The Nucleus (Dalton, A.J., Haguenau, F., eds.), S. 197-227. New York: Academic Press (1968).

DeTerra, N.: A study of nucleo-cytoplasmic interactions during cell division in Stentor coeruleus. Exp. Cell Res. 21, 41-48 (1960).

De-Thé, G.: Cytoplasmic microtubules in different animal cells. J. Cell Biol. 23, 265-275 (1964).

Deutch, A.H., Shumway, L.K.: Protoplasma 76, 387 (1973); zit. nach Went (1977).

Dévisé, R.: Cellule 32, 249 (1922); zit. nach Luykx (1970).

Diaz, G., Lewis, K.R.: Interphase chromosome arrangement in Anopheles atroparvus. Chromosoma (Berl.) 52, 27-35 (1975).

Dickerman, L.H., Goldman, R.D.: A rapid method for production of binucleate cells. Exp. Cell Res. 83, 433-436 (1973).

Dietz, R.: Die Spermatocytenteilungen der Tipuliden. II.Mitteilung. Graphische Analyse der Chromosomenbewegung während der Prometaphase I im Leben. Chromosoma (Berl.) 8, 183-211 (1956).

- Multiple Geschlechtschromosomen bei den cypriden Ostracoden, ihre Evolution und ihr Teilungsverhalten. Chromosoma (Berl.) 9, 359-440 (1958).
- Centrosomenfreie Spindelpole in Tipuliden-Spermatocyten. Z. Naturf. 14b, 749-752 (1959).
- Polarisationsmikroskopische Befunde zur chromosomeninduzierten Spindelbildung bei der Tipulide Pales crocata (Nematocera). Zool. Anz. 26 (Supplementband), 131-138 (1963).
- The dispensability of the centrioles in the spermatocyte divisions of Pales ferruginea (Nematocera). In: Chromosomes today, vol. I (Darlington, C.D., Lewis, K.R., eds.), S. 161-166. Edinburgh: Oliver and Boyd (1966).
- Bau und Funktion des Spindelapparates. Naturwissenschaften 56, 237-248 (1969).
- Die Assembly-Hypothese der Chromosomenbewegung und die Veränderung der Spindellänge während der Anaphase I in Spermatocyten von Pales ferruginea (Tipulidae, Diptera). Chromosoma (Berl.) 38, 11-76 (1972).

Dingle, A.D., Fulton, Ch.: Development of the flagellar apparatus of Naegleria. J. Cell Biol. 31, 43-54 (1966).

Dirksen, E.C.: The presence of centrioles in artificially activated sea-urchin eggs. J. biophys. biochem. Cytol. 11, 244-247 (1961).

Dirksen, E.R.: Observations on centriole formation in the development of ciliated epithelium of mouse oviduct. J. Cell Biol. 39, 34a (Am. Soc. Cell Biol. Abstracts No. 80) (1968).

- Centriole morphogenesis in developing ciliated epithelium of the mouse oviduct. J. Cell Biol. 51, 286-302 (1971).

Donnelly, G.M., Sisken, J.E.: RNA and protein synthesis required for entry of cells into mitosis and during the mitotic cycle. Exp. Cell Res. 46, 93-105 (1967).

DuPraw, E.J.: The organization of nuclei and chromosomes in honeybee embryonic cells. Proc. Natl. Acad. Sci.(U.S.A.) 53, 161-168 (1965).

- Suprachromosomal organization. In: DNA and chromosomes, p. 186-204. Molecular and cellular biology, series II. New York: Holt, Reinhart and Winston (1970).

Duspiva, F.: Biochemie der Mitose. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/2 (Der Zellkern I), S. 480-568. Berlin: Springer (1971).

Eberth, C.J.: Ueber Kern- und Zelltheilung. Virchows Arch. path. Anat. 67, 523-541 (1876).

Edwards, J.H., Yuncken, C., Rushton, D.I., Richards, S., Mittwoch, U.: Three cases of triploidy in man. Cytogenetics 6, 81-104 (1967).

Ehrenberg, L., Östergren, G.: Experimental studies on nuclear and cell division. Bot. Not. 1942, 203-206 (1942).

Engel, E., McGee, B.J., Harris, H.: Recombination and segregation in somatic cell hybrids. Nature 223, 152-155 (1969).

Ephrussi, B.: Hybridization of somatic cells. Princeton: Univ. Press (1972).

Esponda, P., Gimenez-Martin, G.: The attachment of the synaptonemal complex to the nuclear envelope. Chromosoma (Berl.) 38, 405-417 (1972).

Fankhauser, G.: Cytological studies on egg fragments of the salamander Triton. V. Chromosome number and chromosome individuality in the cleavage mitosis of merogonic fragments. J. exp. Zool. 68, 1-57 (1934).

- The sex of a haploid, metamorphosed salamander (Triton taeniatus Laur.). Genetics 22, 192-193 (1937).
- Griffiths, R.B.: Induction of triploidy and haploidy in the newt, Triturus viridescens, by cold treatment of unsegmented eggs. Proc. Nat. Acad. Sci. 25, 233-238 (1939).

Fawcett, D.W.: Exp. Cell Res. Suppl. 8, 174 (1961); zit. nach Krishan und Ray-Chaudhuri (1969).

- The Cell - Its Organelles and Inclusions. Philadelphia: Saunders (1966).
- Ito, S., Slautterback, D.B.: The occurence of intercellular bridges in groups of cells exhibiting synchronous differentiation. J. biophys. biochem. Cytol. 5, 453-460 (1959).

Fell, H.B., Hughes, A.F.: Mitoses in the mouse: a study of living and fixed cells in tissue cultures. Quart. J. mikr. Sci. 90, 355-380 (1949).

Ferguson, M.C.: Ann. Botany (London) 15, 193 u. 435 (1901); zit. nach Luykx (1970).

Fernandez-Gomez, M.E.: Rate of DNA-synthesis in binucleate cells. Histochemie 12, 302-306 (1968).

Fetner, R.H., Porter, E.D.: Multipolar mitosis in the KB (Eagle) human cell line and its increased frequency as a function of 250 KV X-radiation. Exp. Cell Res. 37, 429-439 (1965).

Firsching, V.: Verlust von heterochromatischen Chromosomenabschnitten in einer aneuploiden Gewebekultur von Microtus agrestis. Inauguraldissertation Bonn (1976).

Flemming, W.: Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. Arch. mikr. Anat. 18, 151-259 (1880).

- Über das Verhalten des Kerns bei der Zelltheilung, und über die Bedeutung mehrkerniger Zellen. Virchows Arch. path. Anat. 77, 1-29 (1879).
- Zellsubstanz, Kern- und Zelltheilung. Leipzig: F.C.W. Vogel (1882).

Flemming, W.: Über Theilung und Kernformen bei Leukocyten und über deren Attractionssphären. Arch. mikr. Anat. 37, 249-298 (1891).

Fol, H.: Etudes sur la développement des mollusques. Arch. Zool. exp. gén. 4, 1-214 (1875).

- Recherches sur la fécondation et le commencement de l'hénogénie chez divers animaux. Genève-Bale-Lyon: H. Georg (1879).

Ford, D.K., Wakonig, R., Yerganian, G.: Further observations on the chromosomes of Chinese hamster cells in tissue culture. J. Nat. Cancer Inst. 22, 765 (1959).

Franke, W.W., Deumling, B., Zentgraf, H., Falk, H., Rae, P.M.M.: Nuclear membranes from mammalian liver. IV. Characterization of membrane-attached DNA. Exp. Cell Res. 81, 365-392 (1973).

- Scheer, U., Fritsch, H.: Intranuclear and cytoplasmic annulate lamellae in plant cells. J. Cell Biol. 53, 823-827 (1972).

Freed, J.J.: Continuous cultivation of cells derived from haploid Rana pipiens embryos. Exp. Cell Res. 26, 327-333 (1962).

Friedländer, M., Wahrman, J.: The spindle as a basal body distributor. A study in the meiosis of the male silkworm moth (Bombyx mori). J. Cell Sci. 7, 65-89 (1970).

Fuge, H.: The arrangement of microtubules and the attachement of chromosomes to the spindle during anaphase in tipulid spermatocytes. Chromosoma (Berl.) 45, 245-260 (1974a).

- Ultrastructure and function of the spindle apparatus. Microtubules and chromosomes during nuclear division. Protoplasma 82, 289-320 (1974b).

- Ultrastructure of cytoplasmic nucleolus-like bodies and nuclear RNP particles in late prophase of tipulid spermatocytes. Chromosoma (Berl.) 56, 363-379 (1976).

- Ultrastructure of mitotic cells. In: Mitosis - facts and questions (Little, M., Paweletz, N., Petzelt, C., Ponstingl, H., Schroeter, D., Zimmermann, H.-P., eds.). Berlin: Springer (1977).

Fulton, Ch.: Centrioles. In: Origin and continuity of cell organelles (Reinert, J., Ursprung, H., eds.), S. 170-221. Berlin: Springer (1971).

Fuseler, J.W.: Temperature dependence of anaphase chromosome velocity and microtubule depolymerization. J. Cell Biol. 67, 789-800 (1975).

Gall, G.A.: Chromosome fibers from an interphase nucleus. Science 139, 120-121 (1963).

Gall, J.G.: Centriole replication. A study of spermatogenesis in the snail Viviparus. J. biophys. biochem. Cytol. 10, 163-193 (1961).

Geitler, L.: Die Entstehung der polyploiden somatischen Zellkerne durch wiederholte Chromosomenteilung ohne Spindelbildung und Kernteilung. Naturwissenschaften 26, 722-723 (1938).

- Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. Protoplasmatologia VI/C. Wien: Springer (1953).

Ghosh, S., Paweletz, N., Ghosh, I.: Mitotic asynchrony of multinucleate cells in tissue culture. Chromosoma (Berl.) 65, 293-300 (1978).

Gimenez-Martin, G.: Duration of the division cycle in diploid, binucleate, and tetraploid cells. Exp. Cell Res. 43, 293-300 (1966).

- Gonzalez-Fernandez, A., Lopez-Saez, J.F.: Phyton 21, 77 (1964); zit. nach Luykx (1970).
- - - A new method of labelling cells. J. Cell Biol. 26, 305-309 (1965).
- Lopez-Saez, J.F., Moreno, P., Gonzalez-Fernandez, A.: On the triggering of mitosis and the division cycle of polynucleate cells. Chromosoma (Berl.) 25, 282-296 (1968).

Gläss, E.: Die Identifizierung der Chromosomen im Karyotyp der Rattenleber. Chromosoma (Berl.) 7, 655-669 (1956).

Godin, D.E., Stack, S.M.: Homologous and non-homologous chromosome association by interchromosomal chromatin connectives in Ornithogalum virens. Chromosoma (Berl.) 57, 309-318 (1976).

Gold, J.R., Avise, J.C.: Spontaneous triploidy in the Californian roach Hesperoleucus symmetricus (Pisces: Cyprinidae). Cytogenet. Cell Genet. 17, 144-149 (1976).

Goldstein, L.: Localization of nucleus protein as shown by transplantation experiments in Amoeba proteus. Exp. Cell Res. 15,

635-637 (1958).

Goldstein, L.: Mitosis; on the mechanism for invariable sister chromatid segregation. Science 156, 1133-1134 (1967).

- Prescott, D.M.: In: The Control of nuclear activity (Goldstein, L., ed.). New Jersey: Prentice Hall (1966).

Golomb, H.M., Bahr, G.F.: Scanning electron microscopic observations of surface structure of isolated human chromosomes. Science 171, 1024-1026 (1971).

- - Lancet II, 1187 (1973); zit. nach Takayama (1975).

- - Human chromatin from interphase to metaphase. Exp. Cell Res. 84, 79-87 (1974a).

- - Correlation of the fluorescent banding pattern and ultrastructure of a human chromosome. Exp. Cell Res. 84, 121-126 (1974b).

Gonzalez, M.A.: Formacion y desarrollo de celulas binucleadas: bimitosis. Genet. Iber. 19, 1-98 (1967).

Gonzalez-Fernandez, A., Gimenez-Martin, G., Diez, J.L., Torre, C. de la, Lopez-Saez, J.F.: Interphase development and beginning of mitosis in the different nuclei of polynucleate homokaryotic cells. Chromosoma (Berl.) 36, 100-111 (1971).

- Lopez-Saez, J.F., Gimenez-Martin, G.: Phyton 21, 157 (1964); zit. nach Luykx (1970).

- - - Duration of the division cycle in binucleate and mononucleate cells. Exp. Cell Res. 43, 255-267 (1966).

Gottschalk, W.: Untersuchungen zum Problem der Herabregulierung der Chromosomenzahl in experimentell erzeugten polyploiden Pflanzen. Z. Vererbungslehre 89, 52-79 (1958).

Gould, R.R., Borisy, G.G.: The pericentriolar material in Chinese hamster ovary cells nucleates microtubule formation. J. Cell Biol. 73, 601-615 (1977).

Graffi, A., Bielka, H.: Probleme der experimentellen Krebsforschung. Leipzig: Akad. Verlagsges. Geest und Portig (1959).

Graham, C.F.: The production of parthenogenetic mammalian embryos and their use in biologibal research. Biol. Rev. 49, 399-422 (1974).

Grell, S.M.: Cytological studies in Culex. I. Somatic reduction divisions. II. Diploid and meiotic divisions. Genetics 31, 60-94 (1946).

Grundmann, E.: Der mitotische Zellcyclus. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/2 (Der Zellkern I) S. 282-479. Berlin: Springer (1971).

- Mitose. In: Grundlagen der Cytologie (Hirsch, G.C., Ruska, H., Sitte, P., Hrsg.) S. 162-179. Stuttgart: Gustav Fischer (1973).

Guttes, E., Guttes, S.: Initiation of mitosis in postmitotic nuclei of Physarum polycephalum. Experientia 19, 13 (1963).

- - Rusch, H.P.: Morphological observations on growth and differentiation of Physarum polycephalum grown in pure culture. Develop. Biol. 3, 588-614 (1961).

Guttmann, B.S.: Biological Principles. New York: W.A. Benjamin (1971).

Haines, M.: Autoradiographic studies of the chromosomes in chronic granulocytic leukemia. Nature 207, 552-553 (1965).

Hamperl, H.: Die Morphologie der Tumoren. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VI/3, S. 18-106. Berlin: Springer (1956).

Hansemann, D.v.: Über asymmetrische Zellteilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung. Virchows Arch. path. Anat. 119, 299-326 (1890).

- Über Kernteilungsfiguren in bösartigen Geschwülsten. Biol. Zbl. 24, 189-192 (1904).

- Das Problem der Krebsmalignität. Z. Krebsforsch. 17, 172-191 (1920).

Harris, H.: Behaviour of differentiated nuclei in heterokaryons of animal cells from different species. Nature 206, 583-588 (1965).

- Cell Fusion. Oxford: Clarendon Press (1970).

- Ford, C.E., Schoefl, G.I.: Arteficial heterokaryons of animal cells from different species. J. Cell Sci. 1, 1-30 (1966).

- Watkins, J.F.: Hybrid cells derived from mouse and man: Arteficial heterokaryons of mammalian cells from different

species. Nature 205, 640-646 (1965).

Heidemann, S.R., Kirschner, M.W.: Aster formation in eggs of Xenopus laevis. Induction by isolated basal bodies. J. Cell Biol. 67, 105-117 (1975).

- Sander, G., Kirschner, M.W.: Evidence for a functional role of RNA in centrioles. Cell 10, 337-350 (1977).

Heitz, E.: Beitrag zur Cytologie von Melandrium. Planta (Berl.) 1, 241-259 (1926).

Heneen, W.K.: Rat-kangaroo cells in culture: A suitable material for studies on the mitotic apparatus and chromosome orientation. Proc. XII. Int. Congr. Genet., vol I, p. 196 (1968).

- In situ analysis of normal and abnormal patterns of the mitotic apparatus in cultured rat-kangaroo cells. Chromosoma (Berl.) 29, 88-117 (1970).
- In situ analysis of cultured Potorus cells. I. DNA-synthesis and mitotic dynamics in bi- and multinucleated cells. Hereditas (Lund) 67, 221-250 (1971).
- Kinetochore and microtubules in multipolar mitosis and chromosome orientation. Exp. Cell Res. 91, 57-62 (1975).
- Nichols, W.W.: Nonrandom arrangement of metaphase chromosomes in cultured cells of the Indian deer, Muntiacus muntjak. Cytogenetics 11, 153-164 (1972).
- - Levan, A., Norby, E.: Polykaryocytosis and mitosis in a human cell line after treatment with measles virus. Hereditas (Lund) 64, 53-84 (1970).

Hens, L.: Chromosome distribution in a_{23} Chinese hamster fibroblasts. Chromosoma (Berl.) 57, 205-217 (1976).

- Kirsch-Volders, M., Charles, S., Galperin-Lemaitre, H.: Relative position of trypsin banded homologous chromosomes in human metaphase figures. Humangenetik 28, 303-311 (1975).

Henshaw, P.S.: Am. J. Roentgenol. Radium Therapy Nucl. Med. 43, 923 (1940); zit. nach Luykx (1970).

Hertwig, O.: Beiträge zur Kenntnis der Bildung, Befruchtung und Teilung des tierischen Eies. I. Morph. Hb. 1, 347-432 (1876).

- Hertwig, R.: Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jena: G. Fischer (1887).

Hertwig, R.: Über den Bau und die Entwicklung von Spirochona gemmipara. Z. Naturforsch. (Jena) 11, 149 (1877).

Hervas, J.-P.: Multinucleate plant cells. I. Aneuploidy in a proliferating population. Exp. Cell Res. 97, 203-212 (1976).

Heslop-Harrison, J.: Cell walls, cell membranes and protoplasmic connexions during meiosis and pollen development. In: Pollen physiology and fertilization (Linskens, ed.). Amsterdam: North Holland Publ. Co. (1964).

Hildebrand, C.E., Okinaka, R.T., Gurley, L.R.: Existence of a residual nuclear protein matrix in cultured chinese hamster cells. J. Cell Biol. 67, 169a (1975).

Holden, J.W.H., Mota, M.: Non-synchronized meiosis in binucleate pollen mother cells of an Avena hybrid. Heredity 10 (part I), 109-117 (1956).

Hoskins, G.C.: Sensitivity of microsurgically removed chromosomal spindle fibres to enzyme disruption. Nature 217, 748 (1968).

Howard, A., Dewey, D.L.: Variation in the period preceeding deoxyribonucleic acid synthesis in bean root cells. In: The cell nucleus (Mitchel, J.S., ed.), S. 155-192. New York: Academic Press (1960).

- Pelc, S.R.: Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity 6, Suppl., 261-273 (1953).

Howell, W.M., Hsu, T.C., Bloch, B.M.: Visualization of centriole bodies using silver stain. Chromosoma (Berl.) 65, 9-20 (1977).

Hsu, T.C., Brinkley, B.R., Arrighi, F.E.: The structure and behavior of the nucleolus organizer in mammalian cells. Chromosoma (Berl.) 23, 137-153 (1967).

- Moorhead, P.S.: Chromosome anomalies in human neoplasma with special reference to the mechanisms of polyploidization and aneuploidization in the HeLa strain. Ann. N.Y. Acad. Sci. 63, 1083-1094 (1956).

Huettner, A.F.: Continuity of the centrioles in Drosophila melanogaster. Z. Zellforsch. 19, 119-134 (1933).

Hughes, A.F., Swann, M.M.: Anaphase movements in the living cell. A study with phase contrast and polarised light on chick

tissue cultures. J. exp. Biol. 25, 45-70 (1948).

Hughes, D.T.: Cytogenetical polymorphism and evolution in mammalian somatic cell populations in vivo and in vitro. Nature 217, 518-523 (1968).

Hughes-Schrader, S.: Reproduction in Acroschismus wheeleri (Pierce). J. Morphol. 39, 157-205 (1924).

- Cytology of hermaphroditism in Icerya purchasi (Coccidae). Z. Zellforsch. 2, 264-292 (1925).
- Origin and differentiation of the male and female germ cells in the heraphrodite of Icerya purchasi (Coccidae). Z. Zellforsch. 6, 509-540 (1927).
- A study of the chromosome cycle and the meiotic division-figure in Llaveia bouvari - a primitive coccid. Z. Zellforsch. 13, 742-770 (1931).
- The chromosomes of Nautococcus Schraderae Vays., and the meiotic division figure of male Llaveiine coccids. J. Morph. 70, 261-299 (1942).
- Distance segregation and compound sex chromosomes in Mantispids (Neuroptera: Mantispidae). Chromosoma (Berl.) 27, 109-129 (1969).
- Ris, H.: The diffuse spindle attachement of coccids, verified by the mitotic behavior of induced chromosome fragments. J. exp. Zool. 87, 429 (1941).

Hulten, M., Karlaman, A., Lindsten, J., Tiepolo, L.: Aneuploidy and polyploidy in Chinese hamster (Cricetulus griseus). Hereditas (Lund) 65, 197-202 (1970).

Huskins, C.L.: Chromosome multiplication and reduction in somatic tissues. Nature 161, 80-83 (1948a).

- Segregation and reduction in somatic tissues. I. Initial observations on Allium cepa. J. Hered. 39, 311-325 (1948b).
- Cheng,K.C.: Segregation and reduction in somatic tissues. IV. Reductioal groupings induced in Allium cepa by low temperature. J. Hered. 41, 13-18 (1950).
- Steinitz, L.N.: The nucleus in differentiation and development. I. and II. Heredity 39, 34-43 / 66-77 (1948).

Immers, J., Runnström, J.: Arch. Zool. 12, 83 (1959); zit. nach Mazia et al. (1960).

Inoué, S.: Organization and function of the mitotic spindle. In: Primitive motile systems in cell biology (Allen, R.D., Kamiya, N., eds.), S. 549-594. New York: Academic Press (1964).

- Bajer, A.: Birefringence in endosperm mitosis. Chromosoma (Berl.) 12, 48-63 (1961).
- Fuseler, J., Salmon, E.D., Ellis, G.W.: Functional organization of mitotic microtubules. Physical chemistry of the in vitro equilibrium system. Biophys. J. 15, 725-744 (1975).
- Sato, H.: Cell motility by labile association of microtubules. J.Gen. Physiol. 50, 259-288 (1967).

Ivanov, M.A.: Experimental production of haploids in Nicotiana rustica L. Genetica 20, 295-397 (1938).

Jacobson, C.-O.: Reactivation of DNA-Synthesis in mammalian neuron nuclei after fusion with cells of an undifferentiated fibroblast line. Exp. Cell Res. 53, 316-318 (1968).

Jacoby, F.: Synchronous mitoses in a binucleate macrophage in vitro. J. Physiol. 98, 6 (1940).

Jacoby, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. Arch. Entwickl.-Mech. Org. 106, 124-192 (1925).

Johnson, H.H.: Centrioles and other cytoplasmic components of the male germ free cells of the Gryllidae. Z. wiss. Zool. 140, 115-166 (1931).

Johnson, R.T., Harris, H.: DNA synthesis and mitosis in fused cells. I. HeLa homokaryons. J. Cell Sci. 5, 603-624 (1969).

- Rao, P.N.: Nucleocytoplasmic interactions in the achievement of nuclear synchrony in DNA synthesis and mitosis in multinucleate cells. Biol. Rev. 46, 97-155 (1971).

Kato, H., Sandberg, A.A.: Chromosome pulverization in human binucleate cells following colcemid treatment. J.Cell Biol. 34, 35-45 (1967).

- - : Chromosome pulverization in human cells with micronuclei. J. nat. Cancer Inst. 40, 165-175 (1968).

Kaufman, M.H.: Chromosome analysis of early postimplantation presumptive haploid pathenogenetic mouse embryos.

J. Embryol. exp. Morph. 45, 85-91 (1978).

Kirschner, M.W.: Microtubule assembly and nucleation. In: International Review of Cytology (Bourne, G.H., Danielli, J.F., eds.) 54, 1-71. New York: Academic Press (1978).

Knörr, K., Beller, F.K., Lauritzen, Ch.: Lehrbuch der Gynäkologie. Berlin: Springer (1972).

Knudsen, O.: Multiple spindles in the seminal epithelium of sterile bulls. Ark. Zool. 11, 119 (1958).

Korff, K. von: Weitere Beobachtungen über das Vorkommen V-förmiger Centralkörper. Anat. Anz. 19, 490-493 (1901).

Koss, L.G.: Morphology of cancer cells. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VI/5 (Geschwülste I), S. 1-140. Berlin: Springer (1974).

Kostanecki, K. v.: Über Kernteilung bei Riesenzellen nach Beobachtung an der embryonalen Säugetierleber. Anat. Hefte 1, 323-352 (1892).

- Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra. Arch. mikr. Anat. 64, 1-98 (1904).
- Zur Morphologie der künstlich parthenogenetischen Entwicklung bei Mactra. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der vielpoligen Mitose. Arch. mikr. Anat. 72, 327-352 (1908).
- Über parthenogenetische Entwicklung der Eier von Mactra mit vorausgegangener oder unterbliebener Ausstoßung der Richtungskörper. Arch. mikr. Anat. 78/2, 1-62 (1911).

Kraemer, P.M., Petersen, D.F., VanDilla, M.A.: DNA constancy in heteroploidy and the stemline theory of tumors. Science 174, 714-717 (1971).

- Deaven, L.L., Crissman, H.A., VanDilla, M.A.: In: Advances in cell and molecular biology. (DuPraw, E.J., ed.), S. 47-108. New York: Academic Press (1972).

Krishan, A., Ray-Chaudhury, R.: Asynchrony of nuclear development in cytochalasin-induced multinucleate cell. J. Cell Biol. 43, 618-621 (1969).

Krompecher, E.: Die mehrfache indirekte Kerntheilung. Königl. Ung. Akademie f. Wissenschaften (1893); zit. nach Norman (1896).

Krstić, R.V.: Ultrastruktur der Säugerzelle. Berlin: Springer (1976).

Kubai, D.F.: The evolution of the mitotic spindle. Intern. Rev. Cytol. 43, 167-227 (1975).

Lampert, F., Bahr, G.F., DuPraw, E.J.: Ultrastructure of a Burkitt's lymphoma marker chromosome, as investigated by quantitative electron microscopy. Cancer (Philadelphia) 24, 367 (1969).

Lettré, H., Lettré, R.: Un problème cytologique: la persistance des structures du fuseau dans l'intervalle des mitoses. Revue Hémat. 13, 337-362 (1958).

– – : A cytological problem: permanence of the chromosomal spindle fiber during interphase. Nucleus 2, 23-46 (1959).

Levan, A., Nichols, W.W., Peluse, M., Coriell, L.L.: The stemline chromosomes of three cell lines representing different vertrebrate classes. Chromosoma (Berl.) 18, 343-358 (1966).

Levis, A.G.: Effetti dei raggi X sulla mitosi di cellule di mammiferi coltivate in vitro. Caryologia (Firenze) 15, 59-86 (1962).

– Marin, G.: Induction of multipolar spindles by X-radiation in mammalian cells in vitro. Exp. Cell Res. 31, 448-451 (1963).

Lewis, W.H.: Interphase (resting) nuclei, chromosomal vesicles and amitosis. Anat. Rev. 97, 433 (1947).

Lovlie, A., Braten, T.: On mitosis in the multicellular alga Ulva mutabilis (Foyn). J. Cell Sci. 6, 109-120 (1970).

Ludford, R.J.: J. Roy. Microscop. Soc. 73, 1-23 (1953); zit. nach Oberling und Bernhard (1961).

Luykx, P.: Kinetochore-to-pole connections during prometaphase of the meiotic divisions in Urechis eggs. Exp. Cell Res. 39, 658-668 (1965).

– Cellular mechanisms of chromosome distribution. Int. Rev. Cytol. (Suppl.) 2, 1-173 (1970).

Lwoff, A.: Problems of morphogenesis in Ciliates. The Kinetosomes in development, reproducton and evolution. New York: Wiley and Sons (1950).

Lyon, M.: Gene action in the X-chromosome of the mouse (Mus musculus L.). Nature 190, 372-373 (1961).

Macklin, C.C.: Amitosis in cells growing in vitro. Biol. Bull. 30, 445-467 (1916).

MacMahon, H.E.: Über die physiologische und pathologische Teilung von Kern und Zelle an Leberepithelien. Zeitschr. f. mikr. Anat. Forsch. 32, 413-443 (1933).

Mahlberg, P.G., Sabharwal, P.S.: Mitosis in the non-articulated lacticifer of Euphorbia marginata. Amer. J. Bot. 54, 465-472 (1967).

Maini, M.M., Stich, H.F.: Chromosomes of tumor cells. II. Effect of various liver carcinogens on mitosis of hepatic cells. J. nat. Cancer Inst. 26, 1413-1427 (1961).

Maller, J., Poccia, D., Nishioka, D., Kidd, P., Gerhart, J., Hartmann, H.: Spindle formation and cleavage in Xenopus eggs injected with centriole-containing fractions from sperm. Exp. Cell Res. 99, 285-294 (1976).

Marek, L.F.: Control of spindle form and function in grasshopper spermatocytes. Chromosoma (Berl.) 68, 367-398 (1978).

Mariyakhina und Butenko (1974); zit. nach Nagl (1976).

Martin, G.M., Sprague, C.A.: Parasexual cycle in cultivated human somatic cells. Science 166, 761-763 (1969).

- - : Vinblastine induces multipolar mitoses in tetrploid human cells. Exp. Cell Res. 63, 466-467 (1970).

Maslin, T.P.: Parthenogenesis in reptiles. Am. Zoologist 11, 361-380 (1971).

Matthews, J.L., Martin, J.H., Race, G.J.: Giant-cell centrioles. Science 155, 1423-1424 (1967).

Mattias, P.: Die Bestimmung des Zellzyklus durch Markierung mit 5-Brom-2-Desoxyuridin (BUdR). Inauguraldissertation Bonn (1977).

Maul, G.G.: The relationship of nuclear pores to chromatin. J. Cell Biol. 47, 132a (1970).

Mayzel, W.: Ueber eigenthümliche Vorgänge bei der Theilung der Kerne in Epithelialzellen. Zbl. med. Wiss. 13, 849-852 (1875).

Mazia, D.: Mitosis and the physiology of cell division. In: The Cell (Brachet, J., Mirsky, A.E., eds.) Vol. III, pp. 77-412. New York: Academic Press (1961).

- The central problems of the biochemistry of cell division. Proc. I. IUB/IBS Symp., vol. 2. London: Academic Press (1961 b).
- Future research on mitosis. In: Mitosis - facts and questions (Little, M., Paweletz, N., Petzelt, C., Ponstingl, H., Schroeter, D., Zimmermann, H.-P., eds.), S. 196-213. Berlin: Springer (1977).
- Dan, K.: The isolation and biochemical characterization of the mitotic apparatus of dividing cells. Proc. nat. Acad. Sci.(Wash.) 38, 826 (1952).
- Harris, P.J., Bibring, T.: The multiplicity of the mitotic centers and the time-course of their duplication and separation. J. biophys. biochem. Cytol. 7, 1-20 (1960).

McGill, M., Brinkley, B.R.: Human chromosomes and centrioles as nucleation sites for the in vitro assembly of microtubules from bovine brain tubulin. J. Cell Biol. 67, 189-199 (1975).

McIntosh, J.R.: Mitosis in vitro: isolates and models of the mitotic apparatus. In: Mitosis - facts and questions (Little, M., Paweletz, N., Petzelt, C., Ponstingl, H., Schroeter, D., Zimmermann, H.-P., eds.), S. 167-184. Berlin: Springer (1977).

- Cande, Z., Snyder, J., Vanderslice, K.: Studies on the mechanism of mitosis. Ann. N. Y. Acad. Sci. 253, 407-427 (1975).

Melander, Y.: Chromatid tension and fragmentation during the development of Calliphora erythrocephala Meig.(Diptera). Hereditas (Lund) 49, 91-106 (1963).

Metzner, R.: Beiträge zur Granulalehre. Arch. Anat. U. Physiol. 309, (1894). In: The Kinetochore of Spindle Fiber Locus in Amphiuma tridactylum. (Schrader, F., ed.). Biol. Bull. 70, 484-498 (1934).

Michel, K.: Die Kern- und Zellteilung im Zeitrafferfilm. Die meiotischen Teilungen bei der Spermatogenese der Schnarrheuschrecke Psophus stridulus L. Zeiss-Nachr. 4, 236-251 (1943).

Miller, O.J., Mukherjee, B.B., Breg, W.R., Gamble, A.V.N.: Non-random distribution of chromosomes in metaphase figures from cultured human leucocytes. I. The peripheral location of the Y chromosome. Cytogenetics 2, 1-14 (1963a).

- Breg, W.R., Mukherjee, B.B., Gamble, A.V.N., Christakos, A.C.: Non-random distribution of chromosomes in metaphase figures from cultured human leucocytes. II. The peripheral location of chromosomes 13, 17-18 and 21. Cytogenetics 2, 152-167 (1963 b).

Mitsuhashi, J.: An observation on the formation of a binucleate cell in the primary cultures of leafhopper embryonic cells. Exp. Cell Res. 48, 93-96 (1967).

Mitsui, Y., Schneider, F.L.: Increased nuclear sizes in senescent human diploid fibroblast cultures. Exp. Cell Res. 100, 147-152 (1976).

Mittwoch, U.: Scope and limitations of Feulgen microdensitometry. In: Chromosomes today, vol. II (Darlington, C.D., Lewis, K.R., eds.), Heredity Suppl. 24, pp. 90-98. Edinburgh: Oliver and Boyd (1969).

Mitzukami, I., Gall, J.G.: Centriole replication. II. Sperm formation in the fern, Marsilea and the cycad zamia. J. Cell Biol. 29, 97-111 (1966).

Molé-Bajer, J.: Chromosome movements in chloral hydrate treated endosperm cells in vitro. Chromosoma (Berl.) 22, 465-480 (1967).

- Fine structural studies of apolar mitosis. Chromosoma (Berl.) 26, 427-448 (1969).
- The role of centrioles in the development of astral spindles (newt). Cytobios. 13, 117-140 (1975).
- Bajer, A.: Mitosis in endosperm. Techniques of studies in vitro. Cellule 63, 397-407 (1963).
- - : Studies of selected endosperm cells with the light and electron microscope. The technique. Cellule 67, 257-265 (1968).

Moorhead, P.S., Hsu, T.C.: Cytologic studies of HeLa, a strain of human cervicae carcinoma. III. Durations and characteristics of the mitotic phases. J. nat. Cancer Inst. 16, 1047-

1066 (1956).

Morgan, T.H.: A study of a variation of cleavage. Arch. Entwickl.-Mech. Org. 2, 72-80 (1895).

Morinaga, T., Fukushima, E.: Cytogenetical studies on Oryza sativa L. I. Studies on the haploid plant of Oryza sativa. Jap. J. Bot. 7, 75-104 (1934).

Mottier, D.M.: Jahrb. Wiss. Botan. 31, 125 (1897); zit. nach Luykx (1970).

Murray, R.G., Murray, A.S., Pizzo, A.: The fine structure of mitosis in rat thymic lymphocytes. J. Cell Biol. 26, 601-619 (1965).

Nagl, W.: Zellkern und Zellzyklen. Stuttgart: Ulmer (1976).

Nakanishi, Y.H., Nakahora, H.: Cytological studies of tumors. XVIII. A phase microscopy study on the mitotic process in the MTK-IV tumor and the Watanabe ascites hepatoma. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. (Ser. VI), 12, 456-464 (1956).

Nicklas, R.B.: Recurrent pole-to-pole movements of the sex chromosomes during prometaphase I in Melanoplus differentialis spermatocytes. Chromosoma (Berl.) 12, 97-115 (1961).

- Mitosis. In: Advances in cell biology (Prescott, D.M., Goldstein, L., McConkey, E.H., eds.), vol. 2, pp. 225-297. New york: Appleton-Century-Crofts (1971).

Nilova, V.K., Sukhanova, K.M.: Synthesis of nucleic acids in Opalina ranarum Ehrbg. Nature 204, 459-460 (1964).

Norman, W-W.: Segmentation of the nucleus without segmentation of the protoplasm. Arch. Entwickl.-Mech. Org. 3, 106-126 (1896).

Nur, U.: Sperms, sperm bundles and fertilization in a mealy bug, Pseudococcus obscurus ESSIG (Homoptera: Coccoidea). J. Morph. 111, 173-199 (1962).

- Meiotic parthenogenesis and heterochromatization in a soft scale, Pulvineria hydrangeae (Coccoidea: Homoptera). Chromosoma (Berl.) 14, 123-139 (1963).

Oberling, Ch., Bernhard, W.: The morphology of the cancer cells. In: The Cell (Brachet, J., Mirsky, A.E., eds.) Vol. V. New York: Academic Press (1961).

Östergren, G.: Transverse equilibria on the spindle. Bot. Not. 467-468 (1945).

- Equilibria and movements of chromosomes. Proc. 8th Int. Congr. of Gen. (Hereditas Suppl.) (1948).
- Considerations on some elementary features of mitosis. Hereditas (Lund) 36, 1-18 (1950).
- The mechanism of co-orientation in bivalents and multivalents. The theory of orientation by pulling. Hereditas (Lund) 37, 85-156 (1951).
- Bajer, A.: La mitose dans les cellules traitées par le methanol. Etude microcinématographique. In: L'action antimitotique et caryoclasique de substances chimiques (Turchini, J., Sentein, P., eds.), S. 199-207. Colloque No. 88. Paris: C.N.R.S. (1960).

Oftebro, R.: The division of bi- and multinucleate HeLa cells. Rep. Fourth Scand. Congr. Cell Res. p.74 (1965).

- Further studies of bi- and multinucleate HeLa cells. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 22, Suppl. 106, 79-96 (1968).
- Wolf, I.: Mitosis of bi- and multinucleate HeLa cells. Exp. Cell Res. 48, 39-52 (1967).

Ohno, S.: Cytologic and genetic evidence of somatic segregation in mammals, birds and fishes. In: Phenotypic Expression in vitro, vol. II. Baltimore: Tissue Culture Assoc., Williams and Wilkins (1966).

- Kittrell, W.A., Christian, L.C., Stenius, C., Witt, G.A.: An adult triploid chicken (Gallus domesticus) with a left ovotestis. Cytogenetics 2, 42-49 (1963).
- Stenius, C., Faisst, E., Zenzes, M.T.: Post-zygotic chromosomal rearrangements in rainbow trout (Salmo irideus GIBBONS). Cytogenetics 4, 117-129 (1965).
- Weiler, C., Poole, J., Christian, L., Stenius, C.: Autosomal polymorphism due to pericentric inversions in the deer mouse (Peromyscus maniculatus), and some evidence of somatic segregation. Chromosoma (Berl.) 18, 177-187 (1966).

Okada, Y.: Analysis of giant polynuclear cell formation by HVJ virus from Ehrlich's ascites tumor cells. Exp. Cell Res. 26, 98-128 (1962).

Osterhout, W.J.V.: Proc. Calif. Acad. Sci. (3) 2, 255 (1902); zit. nach Luykx (1970).

Outka, D.E., Klauss, B.C.: The ameba-to-flagellate transformation in Tetramitus rostratus. J. Cell Biol. 35, 323-346 (1967).

Palitti, F., Rizzoni, M.: Pattern of DNA segregation in multipolar anatelophases of different ploidy in euploid and aneuploid mammalian cells cultivated in vitro. Genetica 43, 130-147 (1972).

Parmenter, C.L.: Haploid, diploid, triploid and tetraploid chromosome numbers and their origin in parthenogenetically developed larvae and frogs of Rana pipiens and R. palustris. J. exp. Zool. 66, 409-453 (1933).

Parmentier, R.: Production of 'three-group metaphases' in the bone-marrow of the golden hamster. Nature 171, 1029-1030 (1953).

- Dustin, P., Jr.: Early effects of hydroquinone on mitosis. Nature 161, 527-528 (1948).

Paweletz, N.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an frühen Stadien der Mitose bei HeLa-Zellen. Cytobiol. 9, 368-390 (1974).

Pawlowski, P.J., Berlowitz, L.: Non-replicating chromatin: its attachment to the nuclear membrane in mealy bugs. Exp. Cell Res. 56, 154-156 (1969).

Pawlowitzki, I.H., Cenani, A.: Sporadic triploid cells in human blood and fibroblast cultures. Humangenetik 5, 65-69 (1967).

Payne, F.: Some cytoplasmic structures in the male germ cells of Gelastocoris oculatus (toad-bug). J. Morph. 43, 299-345 (1927).

Pearse, A.G.F.: Histochemistry. 3rd ed., vol.I. London: Churchill (1968).

Pease, D.C.: Hydrostatic pressure effects upon the spindle figure and chromosome movement. II. Experiments on the meiotic

divisions of Tradescantia pollen mother cells. Biol. Bull. 91, 145-169 (1946).

Pepper, D.A., Brinkley, B.R.: Localization of tubulin in the mitotic apparatus of mammalian cells by immunofluorescence and immunoelectron microscopy. Chromosoma (Berl.) 60, 223-235 (1977).

- - : Microtubule initiation at kinetochores and centrosomes in lysed mitotic cells. J. Cell Biol. 82, 585-591 (1979).

Pera, F.: Die Entstehung haploider und triploider Zellen durch multipolare Mitosen. Verh. anat. Ges., 64. Vers., Homburg, pp. 53-55 (1969).

- Mechanismen der Polyploidisierung und der somatischen Reduktion. Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch. 43 (5), 1-112 (1970).
- Pattern of repetitive DNA of the chromosomes of Microtus agrestis. Chromosoma (Berl.) 36, 263-271 (1972a).
- Heterochromatin, repetitive DNS und Nukleolen in Leberzellen von Microtus agrestis. Histochemie 30, 82-96 (1972b).
- Simultaneous staining of the spindle apparatus and constitutive heterochromatin. Stain Technology 49, 335-337 (1974).
- Arrangement of spindle apparatus in mitoses of different ploidy. Exp. Cell Res. 92, 419-427 (1975).
- Mattias, P., Detzer, K.: Methods for determining the proliferation kinetics of cells by means of 5-bromodeoxyuridine. Cell Tissue Kinet. 10, 255-264 (1977).
- Rainer, B.: Studies of multipolar mitoses in euploid tissue cultures. I. Somatic reduction to exactly haploid and triploid chromosome sets. Chromosoma (Berl.) 42, 71-86 (1973).
- - : Studies of multipolar mitoses in euploid tissue cultures. II. Somatic segregation of the sex chromosomes. Chromosoma (Berl.) 46, 225-232 (1974).
- Scholz, P.: Polyploidization in vitro: formation of a predominantly triploid cell population in an originally diploid tissue culture of Microtus agrestis. Humangenetik 21, 17-26 (1974).

Pera, F., Scholz, P.: Late DNA replication of X chromosomes in female and pseudofemale cells of Microtus agrestis. Humangenetik 30, 173-177 (1975).

- Schwarzacher, H.G.: Formation and division of binucleate cells in kidney cell cultures of Microtus agrestis. Humangenetik 6, 158-162 (1968).
- - : Die Verteilung der Chromosomen auf die Tochterzellkerne multipolarer Mitosen in euploiden Gewebekulturen von Microtus agrestis. Chromosoma (Berl.) 26, 337-354 (1969).
- Sperling, K.: Staining of the spindle apparatus in human lymphocyte and fibroblast cultures. Hum. Genet. 34, 195-197 (1976).
- Wolf, U.: DNS-Replikation und Morphologie der X-Chromosomen während der Syntheseperiode bei Microtus agrestis. Chromosoma (Berl.) 22, 378-389 (1967).

Peterson, S.P., Berns, M.W.: Evidence for centriolar region RNA functioning in spindle formation in dividing PtK_2 cells. J. Cell Sci. 34, 289-301 (1978).

- - : Mitosis in flat PtK_2-human hybrid cells. Exp. Cell Res. 120, 223-236 (1979).

Phillips, S.G., Rattner, J.B.: Dependence of centriole formation on protein synthesis. J. Cell Biol. 70, 9-19 (1976).

Pickett-Heaps, J.D.: The evolution of the mitotic apparatus: an attempt at comparative ultrastructural cytology in dividing plant cells. Cytobios 3, 257-280 (1969).

- The evolution of mitosis and the eukaryotic conditions. Biosystems 6, 37-48 (1974).
- Aspects of spindle evolution. Ann. N.Y. Acad. Sci. 253, 352-361 (1975).

Politzer, G.: Pathologie der Mitose. Protoplasma Monographien 7, 1-238 (1934).

Pollister, A.W.: Notes on the centrioles of amphibian tissue cells. Biol. Bull. 65, 529-545 (1933).

- Centrioles and chromosomes in the atypical spermatogenesis of Vivipara. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 25, 189-195 (1939).

Pollister, A.W., Pollister, P.F.: The relation between centriole and centromere in atypical spermatogenesis of viviparid snails. Ann. N.Y. Acad. Sci. 45, 1-48 (1943).

Ponten, J.: Carcinogenesis in vitro. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VI/7 (Geschwülste III), S. 1-32. Berlin: Springer (1975).

Pontecorvo, G.: Gene-stricture and action in relation to heterosis. Proc. roy. Soc. B. 144, 171 (1955).

Porter, K.R.: Cytoplasmic microtubules and their functions. In: Principles of Biomolecular Organization. (Wolstenholme, G.E.W., O'Connor, M., eds.), pp. 308-356. London: J. and A. Churchill Ltd. (1966).

Postwald, H.E.: An electron microscope study of spermiogenesis in Spirorbis (Laeospira) mörchi LEVINSEN (Polychaeta). Z. Zellforsch. 83, 231-248 (1967).

Prescott, D.M.: Microtechniques in amoeba studies. Ann. N.Y. Acad. Sci. 78, 655 (1959).

Rabl, C.: Über Zelltheilung. Morph. Jb. 10, 214-330 (1885).

Rainer, B.: Chromosomenanalysen an Tochterkernen multipolarer Mitosen. Inauguraldissertation Bonn 1975.

Rao, P.N., Engelberg, J.: Mitotic non-disjunction of sister chromatids and anomalous mitosis induced by low temperatures in HeLa cells. Exp. Cell Res. 43, 332-342 (1966).

- - : Structural specificity of estrogens in the induction of mitotic chromatid non-disjunction in HeLa cells. Exp. Cell Res. 48, 71-81 (1967).

- Hittelman, W.N., Wilson, B.A.: Mammalian cell fusion. VI. Regulation of mitosis in binucleate HeLa cells. Exp. Cell Res. 90, 40-46 (1975).

- Johnson, R.T.: Mammalian cell fusion studies on the regulation of DNA synthesis and mitosis. Nature 225, 159-164 (1970).

Rasch, E., Swift, H., Klein, R.M.: Nucleoprotein changes in plant tumor growth. J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 11-34 (1959).

Rattner, J.B., Berns, M.W.: Centriole behavior in early mitosis of rat kangaroo cells (PtK_2). Chromosoma (Berl.) 54, 387-395 (1976).

Rattner, J.B., Phillips, S.G.: Independence of centriole formation and DNA synthesis. J. Cell Biol. 57, 359-372 (1973).

Reitberger, A.: Die Cytologie des pädogenetischen Entwicklungszyklus der Gallmücke Obligarces paradoxus. Chromosoma (Berl.) 1, 391-473 (1940).

Rickards, G.K.: Prophase chromosome movements in living house cricket spermatocytes and their relationship to prometaphase, anaphase and granule movements. Chromosoma (Berl.) 49, 407-455 (1975).

Ridler, M.A.C., Ohara, P.T.: Lancet I, 1339 (1972); zit. nach Takayama (1975).

- Smith, G.F.: The response of human cultured lymphocytes to Cytochalasin B. J. Cell Sci. 3, 595-602 (1968).

Rieder, C.L.: Ribonucleoprotein staining of centrioles and kinetochores in newt lung cell spindles. J.Cell Biol. 80, 1-9 (1979).

Rieger, R., Michaelis, A., Green, M.M.: Glossary of genetics and cytogenetics. Berlin: Springer (1976).

Riley, D.E., Keller, J.M., Byers, B.: The isolation and characterization of nuclear ghosts from cultured HeLa cells. Biochemistry (Wash.) 14, 3005-3013 (1975).

Ringertz, N.R., Savage, R.E.: Cell hybrids. New York: Academic Press (1975).

Risler, H.: Polyploidie und somatische Reduktion in der Larvenepidermis von Aedes aegypti L. (Culicidae). Chromosoma (Berl.) 10, 184-209 (1959).

- Untersuchungen zur somatischen Reduktion in der Metamorphose des Stechmückendarms. Biol. Zentralbl. 80, 413-428 (1961).

Rizzoni, M., Palitti, F., Perticone, P.: Euploid segregation through multipolar mitosis in mammalian cell cultures. Identification of triploid, haploid, and segregating diploid cells in a diploid-euploid primary culture of Rhesus kidney cells. Chromosoma (Berl.) 45, 151-162 (1974).

Robbins, E.G., Jentzsch, G., Micali, A.: The centriole cycle in synchronized HeLa cells. J. Cell Biol. 36, 329-339 (1968).

Rondanelli, E.G., Trenta, A., Magliulo, E., Vannini, V., Cerna, G., Carosi, G.: Morphogénèse des cellules à plusieurs noyaux par l'action des rayons X. Exp. Cell Res. 47, 222-228 (1967).

Roos, U.-P.: Normal and abnormal mitosis in a mammalian cell in vitro. A light and electron microscopic study. Doctoral Dissertation, University of Florida 1971.

- Light and electron microscopy of rat kangaroo cells in mitosis. I. Formation and breakdown of the mitotic apparatus. Chromosoma (Berl.) 40, 43-82 (1973a).
- Light and electron microscopy of rat kangaroo cells in mitosis. II. Kinetochore structure and function. Chromosoma (Berl.) 41, 195-220 (1973b).
- Light and electron microscopy of rat kangaroo cells in mitosis. III. Patterns of chromosome behavior during prometaphase. Chromosoma (Berl.) 54, 363-385 (1976).

Roth, L.E.: Electron microscopy of mitosis in amebae. III. Cold and Urea treatments: a basis for tests of direct effects of mitotic inhibitors on microtubule formation. J. Cell Biol. 34, 47-59 (1967).

Rowen, H.S., Mallory, F.B.: A multinucleated liver cell carcinoma. Am. J. Path. 1, 677-680 (1925).

Rubin, R.W., Cunningham, W.P.: Partial purification and phosphotungsrate solubilization of basal bodies and kinetodesmal fibers from Tetrahymena Pyriformis. J. Cell Biol. 57, 601-612 (1973).

Rückert, J.: Über physiologische Polyspermie bei meroblastischen Wirbeltiereiern. Anat. Anz. 7, 320-333 (1892).

Rusch, H.P., Sachsenmaier, W., Behrens, K., Gruter, V.: Synchronization of mitosis by the fusion of the plasmodia of Physarum polycephalum. J. Cell Biol. 31, 204-209 (1966).

Rustad, R.C.: Induction of multipolar spindles by single X-irradiated sperm. Experientia (Basel) 15, 323 (1959).

Rutishauser, A.: Cytogenetik transplantabler tierischer und menschlicher Tumoren. Neujahrsbl. naturforsch. Ges. Zürich 165 (1963).

Sakamura, T.: Experimentelle Studien über die Zell- und Kernteilung mit besonderer Rücksicht auf Form, Größe und Zahl der Chromosomen. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo 39, 1-221 (1920).

Sandberg, A.A., Hossfeld, D.K.: Chromosomal changes in human tumors and leukemias. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VI/5 (Geschwülste I), S.141-287. Berlin: Springer (1974).

- Sofuni, T., Takagi, N., Moore, G.E.: Chronology and pattern of human chromosome replication. IV. Autoradiographic studies of binucleate cells. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 56, 105-110 (1966).

Sarvella, P.: Sporadic occurrence of parthenogenesis in poultry. J. Hered. 61, 215-219 (1970).

Schindler, A., Mikamo, K.: Triploidy in man. Cytogenetics 9, 116-130 (1970).

Schmid, W.: Multipolar spindles after endoreduplication. Exp. Cell Res. 42, 201-204 (1966).

- Heterochromatin in mammals. Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. 42, 1-60 (1967).

- Smith, D.W., Theiler, K.: Chromatinmuster in verschiedenen Zelltypen und Lokalisation von Heterochromatin auf Metaphasechromosomen bei Microtus agrestis, Mesocricetus auratus, Cavia cobaya und beim Menschen. Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. 40, 448-454 (1965).

Schneider, L.K.: RNA synthesis in chromosome connectives. J. Cell Biol. 56, 608-611 (1973).

Schottländer, J.: Über Kern- und Zelltheilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut. Arch. mikr. Anat. 31, 426-482 (1888).

Schrader, F.: The spermatogenesis of the earwig Anisolabis maritima BON. with reference to the mechanism of chromosomal movement. J. Morph. 68, 123-141 (1941).

Schreiner, A., Schreiner, K.E.: Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Myxine glutinosa (L.). Archs. Biol., Paris 21, 315-355 (1905).

Schultz, R.J.: Special adaptive problems associated with unisexual fishes. Am. Zoologist 11, 351-360 (1971).

Schultze, B.: Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie. Bd. II/5 (Stoffwechsel und Feinstruktur der Zelle). Berlin: Springer (1968).

Schuster, F.: An electron microscope study of the amoebo-flagellate Naegleria. J. Protozool. 10, 297-313 (1963).

Schwarzacher, H.G.: Chromosomes. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Bd. I/3. Berlin: Springer (1976).

- Pera, F.: Multipolar mitosis and somatic segregation in cell cultures of Microtus agrestis. In: Comparative mammalian cytogenetics, pp. 186-190. New York: Springer (1969).

Seto, T., Kezer, J., Pomerat, C.M.: A cinematographic study of meiosis in salamander spermatocytes in vitro. Z. Zellforsch. 94, 407-424 (1969).

Sinha, A.K.: Spontaneous occurrence of tetraploidy and near-haploidy in mammalian peripheral blood. Exp. Cell Res. 47, 443-448 (1967).

Sisken, J.E., Kinosita, R.: Variations in the mitotic cycle in vitro. Exp. Cell Res. 22, 521-525 (1961).

Snell, W.J., Dentler, W.L., Haimo, L.T., Binder, L.I., Rosenbaum, J.L.: Assembly of chick brain tubulin onto isolated basal bodies of Chlamydomonas reinhardi. Science 185, 357-360 (1974).

Snyder, J.A., McIntosh, J.R.: Initiation of microtubules from mitotic centers in lysed mammalian cells. J. Cell Biol. 67, 744-760 (1975).

Sorokin, S.P.: Reconstruction of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. J. Cell Sci. 3, 207-230 (1968).

Specht, W.: Bildung, Bau und Funktion des sog. achromatischen Teilungsapparatus der Zelle erläutert am Beispiel der Reifungsspindel im Ei von Tubifex. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 122, 266-288 (1961).

Stern, C.: The nucleus and somatic cell variation. J. cell comp. Physiol. 52, Suppl. 1, 1-34 (1958).

Stevens, B.J.: The fine structure of the nucleolus during mitosis in grasshopper neuroblast cells. J. Cell Biol. 24, 349-368 (1965).

Stich, H.F.: The DNA content of tumor cells. II. Alterations during the formation of hepatoma in rats. J. nat. Cancer Inst. 24, 1283-1296 (1960).

Stiller, D., A,lacher, E., Schmidt, R.: Mitotic abnormalities in proliferating hepatocytes during carcinogenesis due to diethylnitrosamine (DENA). Exp. Path. 6, 80-90 (1972).

Stone, W.H., Friedman, J., Fregin, A.: Possible somatic cell mating in twin cattle with erythrocyte mosaicisme. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 51, 1036-1044 (1964).

Storey, W.B.: Somatic reduction in cycads. Science 159, 648-650 (1968).

Strasburger, E.: Zellbildung und Zellteilung. Jena: G. Fischer (1875).

- Ueber den Theilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältnis der Kernteilung zur Zelltheilung. Bonn: M. Cohen und Sohn (1882).
- Jahr. Wiss. Botan. 28, 151 (1895); zit. nach Luykx (1970).

Stubblefield, E.: DNA synthesis and chromosomal morphology of Chinese hamster cells cultured in media containing N-deacetyl-N-methyl-colchicine (colcemid). In: Cytogenetics of cells in culture (Harris, R.J.C., ed.), pp. 223-248. New York: Academic Press (1964).

- Centriole replication in mammalian cells. In: The proloferation and spread of neoplastic cells. Baltimore: Williams and Wilkins (1968).
- Brinkley, B.R.: Architecture and function of the mammalian centriole. In: Formation and fate of cell organelles (Warren, K.B., ed.), pp. 175-218. New York: Academic Press (1967).
- Wray, W.: Architecture of the Chinese hamster metaphase chromosome. Chromosoma (Berl.) 32, 262-294 (1971).

Sunkara, P.S., Al-Bader, A.A., Rao, P.N.: Mitoplasts. Mitotic

cells minus the chromosomes. Exp. Cell Res. 107, 444-448 (1977).

Suomalainen, E.: Beiträge zur Zytologie der parthenogenetischen Insekten. I. Coleoptera. Ann. Acad. Sci. fenn. (Ser.A) 54 (7), 1-144 (1940).

- Parthenogenese und Polyploidie bei Rüsselkäfern (Curculionidae). Hereditas (Lund) 33, 425-456 (1947).

Swann, M.M.: The mechanism of cell division: experiments with ether on the sea urchin egg. Exp. Cell Res. 7, 505-517 (1954).

Swanson, C.P.: Cytologie und Cytogenetik. Stuttgart: G. Fischer (1960).

Szollosi, D., Calarco, P., Donahue, R.P.: Absence of centrioles in the first and second meiotic spindles of mouse oocytes. J. Cell Sci. 11, 521-541 (1972).

Takayama, S.: Interchromosomal connectives in squash preparations of L cells. Exp. Cell Res. 91, 408-412 (1975).

Taylor, E.W.: Dynamics of spindle formation and its inhibition by chemicals. J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 193-196 (1959).

- Relation of protein synthesis to the division cycle in mammalian cell cultures. J. Cell Biol. 19, 1-18 (1963).

Telzer, B.R., Moses, M.J., Rosenbaum, J.L.: Assembly of microtubules onto kinetochores of isolated mitotic chromosomes of HeLa cells. Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.) 72, 4023-4027 (1975).

- Rosenbaum, J.L.: Cell cycle-dependent, in vitro assembly of microtubules onto the pericentriolar material of HeLa cells. J. Cell Biol. 81, 484-497 (1979).

Teplitz, R.L., Gustafson, P.E., Pellett, O.L.: Chromosomal distribution in interspecific in vitro hybrid cells. Exp. Cell Res. 52, 379-391 (1968).

Therman, E., Timonen, S.: Multipolar spindles in human cancer cells. Hereditas (Lund) 36, 393-405 (1950).

- - The prophase index and the occurrence of multipolar divisions in human cancer cells. Hereditas (Lund) 40, 313-324 (1954).

Timonen, S., Therman, E.: The changes in the mitotic mechanism

of human cancer cells. Cancer Res. 10, 431-439 (1950).

Tobey, R.A., Anderson, E.C., Petersen, D.F.: The effects of thymidine on the duration of G_1 in Chinese hamster cells. J. Cell Biol. 35, 53-59 (1967).

Treub, M. (1879); zit. nach Flemming (1880).

Tschermak-Woess, E.: Endomitose. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/2 (Der Zellkern I), S.569-625. Berlin: Springer (1971).

- Somatische Polyploidie bei Pflanzen. In: Grundlagen der Cytologie (Hirsch, G.C., Ruska, H., Sitte, P., Hrsg.), S.189-204. Stuttgart: G. Fischer (1973).

Vogel, F., Schroeder, R.M.: The internal order of the interphase nucleus. Humangenetik 25, 265-297 (1974).

Walters, M.S.: Aberrant chromosome movement and spindle formation in meiosis of Bromus hybrids: An interpretation of spindle organization. Am. J. Bot. 45, 271-289 (1958).

- Rates of meiosis, spindle irregularities and microsporocyte division in Bromus trinii x B. carinatus. Chromosoma (Berl.) 11, 167-204 (1960).

Wang, R.J.: Temperature-sensitive mammalian cell line blocked in mitosis. Nature 248, 76-78 (1974).

- Yin, L.: Further studies on a mutant mammalian cell line defective in mitosis. Exp. Cell Res. 101, 331-336 (1976).

Warburton, D., Naylor, A.F., Warburton, F.E.: Spatial relations of human chromosomes identified by quinacrine fluorescence at metaphase. Humangenetik 18, 297-306 (1973).

Warren, S.: The angle of the mitotic spindles in malignant cells. Am. J. Path. 9, 781-788 (1933).

Watanabe, Y., Ikeda, M.: Evidence for the synthesis of the "division protein" in Tetrahymena pyriformis. Exp. Cell Res. 38, 432-434 (1965a).

- - Isolation and characterization of the division protein in Tetrahymena pyriformis. Exp. Cell Res. 39, 443-452 (1965b).

- - Further confirmation of "division protein" fraction in Tetrahymena pyriformis. Exp. Cell Res. 39, 464-469 (1965c).

Weber, K., Bibring, Th., Osborn, M.: Spezific visualization of

tubulin-containing structures in tissue culture cells by immunofluorescence. Exp. Cell Res. 95, 111-120 (1975).

Weisenberg, R.C., Rosenfeld, A.C.: In vitro polymerization of microtubules into asters and spindles in homogenates of surf clam eggs. J. Cell Biol. 64, 146-158 (1975).

Weisz, P.: Experiments on the initiation of division in Stentor coeruleus. J. Exp. Zool. 131, 137-162 (1956).

Wendt, E.: Lebendbeobachtungen an bestrahlten Interphasekernen. Z. Zellforsch. 49, 677-689 (1959).

Went, H.H.: The behavior of centrioles and the structure and formation of the achromatic figure. Protoplasmatologia VI/G/1. Wien: Springer (1966).

- Centriole duplication in sand dollar eggs. I. The effects of selected reagents. Exp. Cell Res. 108, 63-73 (1977).

Werry, P.A.Th.J., Stoffels, K., Engels, F.M., van der Laan, F., Spanjers, A.W.: The relative arrangement of chromosomes in mitotic interphase and metaphase in Haplopappus gracilis. Chromosoma (Berl.) 62, 93-101 (1977).

Westerveld, A.: (1969); zit. nach Johnson und Harris (1969).

- Freeke, M.A.: Cell cycle of multinucleate cells after cell fusion. Exp. Cell Res. 65, 140-144 (1971).

Wilson, E.B.: Experimental studies in cytology. I. A cytological study of artificial parthenogenesis in sea-urchin eggs. Arch. Entw.-Mech. Org. 12, 529-596 (1901).

- The cell in development and inheritance, 3rd ed. London: MacMillan (1925).

Wilson, J.W., Leduc, E.H.: The occurrence and formation of binucleate and multinucleate cells and polyploid nuclei in the mouse liver. Amer. J. Anat. 82, 353-391 (1949).

Wise, D.: On the mechanism of prometaphase congression: chromosome velocity as a function of position on the spindle. Chromosoma (Berl.) 69, 231-241 (1978).

Wolf, U., Flinspach, G., Böhm, R., Ohno, S.: DNS-Reduplikationsmuster bei den Riesen-Geschlechtschromosomen von Microtus agrestis. Chromosoma (Berl.) 16, 609-617 (1965).

Woll, E.: Einwirkung von Nucleinsäuren und ihren Baustoffen auf

die Wurzelspitzenmitose. Chromosoma (Berl.) 5, 391-427 (1953).

Yamanaka, T., Okada, Y.: Cultivation of fused cells resulting from treatment of cells with HVJ. I. Synchronization of the stages of DNA synthesis of nuclei involved in fused multinucleated cells. Biken's J. 9, 159-175 (1966).

- - Cultivation of fused cells resulting from treatment of cells with HVJ. II. Division of binucleated cells resulting from fusion of two KB cells by HVJ. Exp. Cell Res. 49, 461-469 (1968).

Yosida, C.K.: A preliminary note on the karyological study of Yoshida ascites sarcoma in the white rat. Oguma Comm. Vol. Cyt. Genet. 1, 130-132 (1948).

Yu, C.K.: Structure of chromosomes visualized by scanning electron microscopy. Can. J. Genet. Cytol. 13, 690 (1971).

Yunis, J.J., Roldan, L., Yasmineh, W.G., Lee, J.C.: Staining of repetitive DNA in metaphase chromosomes. Nature 231, 532-533 (1971).

Zalkind, S.J.: Veränderung der Zellfunktionen bei Langzeitkultivation. In: Aktuelle Probleme der Zellzüchtung (Mauersberger, B., Hrsg.) S. 203-226. Stuttgart: G. Fischer (1971).

Zang. K.D., Back, E.: Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. Cytogenetics 7, 455-470 (1968).

Zeligs, J.D., Wollman, S.H.: Mitosis in rat thyroid epithelial cells in vivo. II. Centrioles and pericentriolar material. J. Ultrastruct. Res. 66, 97-108 (1979).

Zeuthen, E.: Cell division and protein synthesis. Proc. I. IUB/IUBS Symp. 2, 537-548. London: Academic Press (1961).

Zirkle, R.E.: Cellular changes following irradiation. In: National Acad. Sci. - Nat. Res. Council Publ. 410 (Patt, H.M., Powers, E.L., eds.), pp. 1-45 (1956).

D A N K S A G U N G

Diese Arbeit wurde mit dankenswerter Unterstützung des Instituts für Begabtenförderung der Konrad-Adenauer-Stiftung durchgeführt.

Ich danke Fräulein P. Scholz und Fräulein U. Dornseiffer, Bonn, für ihre wertvolle technische Mithilfe. Herrn Dipl.-Ing. C. Hildebrand, Troisdorf, bin ich dankbar für seine Hilfe bei der Fertigstellung des Manuskripts.

Ganz herzlich möchte ich Herrn Prof. F. Pera danken für die Überlassung des Themas und die zahlreichen Ideen und Ratschläge, die ich jederzeit von ihm erhalten konnte, und nicht zuletzt für seine immerwährende, fast fünfjährige Geduld, die die langwierige Erstellung dieser Arbeit begleitete.

Meinen besonderen Dank möchte ich an dieser Stelle meinem Freund, Dr. Alfred Wiater, aussprechen, ohne den diese Arbeit nicht begonnen und wahrscheinlich nur unter großen Mühen fertiggestellt worden wäre.

L E B E N S L A U F

Heinz Hans-Josef Kutzner, geb. 9. März 1952 in Troisdorf

Eltern: Heinz Hans-Josef Kutzner sen. und Ida Margaretha Kutzner, geb. Schiffer

Schulen:

1959 - 1963	Katholische Volksschule Lohmarer Straße in Troisdorf
1963 - 1969 1970 - 1971	Mathematisch-Naturwissenschaftliches und Neusprachliches Gymnasium in Troisdorf
1969 - 1970	John Carroll High School in Birmingham / Alabama (U.S.A.). Abschluß: Graduation
1971	Abitur in Troisdorf

Studium:

1971 - 1978	Medizinstudium an der Universität Bonn
1972	Vorphysikum in Bonn
1974	Physikum in Bonn
1975	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1977	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1977 - 1978	Praktisches Jahr im Ev. - Jung - Stilling Krankenhaus in Siegen Wahlfach: Anästhesiologie
1978	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Beruf:

1978	Approbation als Arzt

Seit November 1978 wissenschaftlicher Angestellter in der Abteilung für Experimentelle Biologie am Anatomischen Institut Bonn